

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

**RÉGULATION DE LA PERMÉABILITÉ CAPILLAIRE: MÉCANISMES
IMPLIQUÉS ET EFFETS DE DIVERS ANTIHYPERTENSEURS CHEZ LE RAT
NORMOTENDU ET SPONTANÉMENT HYPERTENDU**

par

STÉPHANIE LEHOUX

Département de Pharmacologie

Thèse présentée à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

5 septembre 1996



National Library
of Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

Acquisitions et
services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-26389-4

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES PUBLICATIONS -----	vi
LISTE DES FIGURES -----	viii
LISTE DES TABLEAUX-----	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS-----	xiii
RÉSUMÉ-----	xiv
INTRODUCTION -----	xv
1. SYSTÈME VASCULAIRE -----	1
1.1. Aspects historiques-----	1
1.2. Structure-----	3
2. ULTRASTRUCTURE DES CAPILLAIRES -----	5
2.1. Le glycocalyx -----	7
2.2. L'endothélium -----	7
2.2.1. <i>Poisons du cytosquelette</i> -----	9
2.3. La membrane basale et la matrice extracellulaire -----	11
2.3.1. <i>Poisons de la matrice extracellulaire</i> -----	14
2.4. Les péricytes -----	16
3. PERMÉABILITÉ CAPILLAIRE -----	16
3.1. Localisation -----	16

3.2. Mécanismes endothéliaux-----	18
3.3. Forces de Starling -----	20
3.4. Conséquences d'une augmentation de la perméabilité -----	22
4. HYPERTENSION ARTÉRIELLE -----	24
4.1. Généralités -----	24
4.2. Traitement de l'hypertension -----	25
4.2.1. <i>Diurétiques</i> -----	26
4.2.2. <i>Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine</i> -----	29
4.2.3. <i>Antagonistes calciques</i> -----	30
4.3. Modèles animaux d'hypertension artérielle -----	31
4.4. Anomalies de la perméabilité dans l'hypertension -----	33
5. BUTS-----	35
MATÉRIEL ET MÉTHODES -----	36
1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL - BLEU D'EVANS -----	37
1.1. Détermination de la concentration de bleu d'Evans extrait par la formamide-----	38
2. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL - PRESSION ARTÉRIELLE -----	39
3. ANALYSE STATISTIQUE DES RÉSULTATS -----	39
4. TRAITEMENTS-----	40
4.1. Étude de la perméabilité de base au bleu d'Evans -----	40
4.2. Effets des poisons du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire-----	41
4.3. Effets de différents agents antihypertenseurs -----	43
4.3.1. <i>Diurétiques</i> -----	43

4.3.2. <i>Autres traitements antihypertenseurs</i>	45
4.3.3. <i>Antagonistes et inhibiteurs</i>	45
5. SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES	46
SECTION I - VALIDATION DU MODÈLE D'ÉTUDES	49
1. RÉSULTATS	49
1.1. Évaluation de la perméabilité capillaire basale	49
1.2. Rôle du cytosquelette et de la matrice extracellulaire	52
2. DISCUSSION	64
2.1. Extravasation physiologique de l'albumine	64
2.2. Cytosquelette et matrice extracellulaire	68
SECTION II - ANTIHYPERTENSEURS, HYPERTENSION ET PERMÉABILITÉ CAPILLAIRE	76
1. RÉSULTATS	76
1.1. Diurétiques - administration aiguë	76
1.2. Furosémide - cinétique et mécanismes d'action	80
1.3. Agents antihypertenseurs - administration chronique	86
1.4. Rats spontanément hypertendus - traitements chroniques	95
2. DISCUSSION	108
2.1. Diurétiques - administration aiguë	108
2.2. Diurétiques - mécanismes d'action	111
2.3. Furosémide - mécanismes d'action	113
2.4. Agents antihypertenseurs - administration chronique	117

<i>2.4.1. Diurétiques</i>	117
<i>2.4.2. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine</i>	121
<i>2.4.3. Antagonistes calciques</i>	123
2.5. Rats SHR - administration chronique d'agents antihypertenseurs	127
CONCLUSIONS	133
REMERCIEMENTS	136
BIBLIOGRAPHIE	138

LISTE DES PUBLICATIONS

LEHOUX, S., SIROIS, M.G., CHAKIR, M., SIROIS, P. et PLANTE, G.E. Diuretics alter vascular permeability in selected organs. Dans J.J. Puschett et J.D. Greenberg (Eds): Diuretics: Chemistry, Pharmacology and Clinical Applications. Elsevier, N.Y. (1993) p. 295-299.

LEHOUX, S. et PLANTE, G.E. (1993) Regional and time dependent vascular permeability profiles after acute furosemide injections. J. Am. Soc. Nephrol. 4: 559.

LEHOUX, S., SIROIS, M.G., SIROIS, P. et PLANTE, G.E. (1994) Acute and chronic diuretic treatment selectively affects vascular permeability in the unanaesthetized normal rat. J. Pharmacol. Exp. Therap. 269: 1094-1099.

PLANTE, G.E., CHAKIR, M., LEHOUX, S. et LORTIE, M. (1995) Disorders of body fluid balance: a new look into the mechanism of disease. Can. J. Cardiol. 11: 788-802.

LEHOUX, S. et PLANTE, G.E. (1996) Antihypertensive drugs and endothelial cell function. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids 54: 65-70.

G.E. PLANTE, CHAKIR, M., ETTAOUIL, K., LEHOUX, S. et SIROIS P. (1996).

Consequences of alteration in capillary permeability. Can. J. Physiol. Pharmacol. 74:
824-833.

LEHOUX, S. et PLANTE, G.E. (1996) Contrasting effects of various antihypertensives
on capillary permeability in the unanaesthetized normal rat. Microvasc. Res. (soumis)

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation schématique de la paroi vasculaire de la circulation systémique à différents niveaux.....	4
Figure 2. Trois types d'endothélium vasculaire.....	6
Figure 3. Représentation schématique d'une intima vasculaire.....	12
Figure 4. Perméabilité capillaire témoin de différents tissus.....	50
Figure 5. Perméabilité capillaire témoin de différents tissus après perfusion du système périphérique avec une solution Krebs	51
Figure 6. Effets de la colchicine sur la perméabilité capillaire.....	53
Figure 7. Effets de la cytochalasine B sur la perméabilité capillaire	54
Figure 8. Effets de l'oxide de phénylarsine sur la perméabilité capillaire.....	55
Figure 9. Effets de la phalloïdine sur la perméabilité capillaire	56
Figure 10. Effets du PAF sur la perméabilité capillaire, avec ou sans traitement à l'oxide de phénylarsine	58
Figure 11. Effets du PAF sur la perméabilité capillaire, avec ou sans traitement à la phalloïdine	59
Figure 12. Effets de la collagénase sur la perméabilité capillaire.....	60
Figure 13. Effets de l'hyaluronidase sur la perméabilité capillaire.....	61
Figure 14. Effets de l'héparine sur la perméabilité capillaire.....	62

Figure 15. Effets aigus d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide ou l'hydrochlorothiazide.....	79
Figure 16. Effets aigus d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'amiloride ou la ciclétanine.....	81
Figure 17. Effets aigus d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'indapamide	82
Figure 18. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire du rein, du duodénum, de la peau et du muscle squelettique	84
Figure 19. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire de la bronche, du coeur, du foie et du pancréas.....	85
Figure 20. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire du rein, du duodénum, de la peau et du muscle squelettique: rôles du thromboxane A ₂ et de l'angiotensine II	87
Figure 21. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire de la bronche, du coeur, du foie et du pancréas: rôles du thromboxane A ₂ et de l'angiotensine II	88
Figure 22. Effets chroniques d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide ou l'hydrochlorothiazide	91

- Figure 23. Effets chroniques des antihypertenseurs diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'amiloride ou la cicléstanine..... 92**
- Figure 24. Effets chroniques des antihypertenseurs diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'indapamide 93**
- Figure 25. Effets chroniques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le périndopril ou le captopril..... 94**
- Figure 26. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la nifédipine ou le vérapamil..... 96**
- Figure 27. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le clentiazem..... 97**
- Figure 28. Comparaison de la perméabilité capillaire témoin chez des rats normotendus (Wistar) et spontanément hypertendus (SHR)..... 98**
- Figure 29. Effets chroniques d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide ou l'hydrochlorothiazide 101**
- Figure 30. Effets chroniques d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de**

l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la cicléτανine ou l'indapamide	103
---	-----

Figure 31. Effets chroniques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR).

Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le périndopril ou le captopril.....	104
---	-----

Figure 32. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de

l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la nifédipine ou le vérapamil	106
--	-----

Figure 33. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de

l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le clentiazem..	107
--	-----

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Effets aigus d'une injection de chacun des cinq diurétiques antihypertenseurs sur la pression artérielle.....	78
Tableau II. Effets de 10 jours de gavage avec un diurétique antihypertenseur, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou un antagoniste calcique sur la pression artérielle chez le rat Wistar	89
Tableau III. Effets de 10 jours de gavage avec un diurétique antihypertenseur, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou un antagoniste calcique sur la pression artérielle chez le rat spontanément hypertendu.....	100

LISTE DES ABRÉVIATIONS

NOM	ABRÉVIATION
Bleu d'Evans	BE
Thromboxane A ₂	TxA ₂
Prostaglandine E ₂	PGE ₂
Prostaglandine I ₂	PGI ₂
Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	IEC
Facteur d'activation plaquettaire	PAF
Diméthyl sulfoxyde	DMSO
Tumour necrosis factor	TNF
Kinase des chaînes légères de la myosine	MLCK
Acétate de désoxycorticostérone	DOCA
Rat spontanément hypertendu	SHR

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

**RÉGULATION DE LA PERMÉABILITÉ CAPILLAIRE: MÉCANISMES
IMPLIQUÉS ET EFFETS DE DIVERS ANTIHYPERTENSEURS CHEZ LE RAT
NORMOTENDU ET SPONTANÉMENT HYPERTENDU**

par
STÉPHANIE LEHOUX
Département de Pharmacologie

Thèse présentée à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

RESUME

Alors que les agents antihypertenseurs disponibles maîtrisent généralement bien la pression sanguine, l'incidence des maladies associées à l'hypertension n'est pas pour autant complètement réduite. Or, on retrouve dans l'hypertension, comme dans ces maladies, une élévation de la perméabilité vasculaire qui n'est pas nécessairement normalisée par le traitement antihypertenseur. Chose étonnante, personne à ce jour ne s'est intéressé aux effets de différents agents antihypertenseurs sur la perméabilité capillaire. Nous avons donc entrepris d'explorer ce phénomène chez le rat Wistar normotendu et le rat spontanément hypertendu (SHR).

La perméabilité capillaire est quantifiée par l'extravasation dans différents tissus du bleu d'Evans (BE: 20mg/kg), un marqueur de l'albumine administré par voie intraveineuse. Premièrement, à l'aide de produits agissant sur différentes protéines du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire, les structures impliquées dans la régulation locale de la perméabilité capillaire sont identifiées. Le passage transendothélial basal d'albumine est généralement assuré par transport vésiculaire, alors qu'en situation inflammatoire la disjonction des cellules endothéliales est impliquée. De plus, dans la plupart des tissus, spécialement ceux avec endothélium de type continu ou discontinu, la barrière est assurée principalement par les microfilaments d'actine des cellules endothéliales, alors que les tissus pourvus de capillaires fenêtrés dépendent surtout sur le collagène, retrouvé majoritairement dans la membrane basale, pour leur sélectivité.

Deuxièmement, divers antihypertenseurs sont administrés en aigu par voie intraveineuse (diurétiques uniquement) ou en chronique, sous forme de gavages quotidiens (10 jours), aux doses équivalentes à celles recommandées pour le traitement de l'hypertension chez l'homme. En aigu, chez le rat Wistar, le furosémide augmente le contenu en BE de tous les tissus (muscle squelettique, pancréas, bronche, foie, duodénum, rein, coeur), alors que l'hydrochlorothiazide et l'indapamide majorent aussi, mais de façon plus modeste, la perméabilité capillaire. Par contraste, l'amiloride et la ciclétanine réduisent l'extravasation d'albumine. Remarquablement, ces modifications de la perméabilité capillaire, qu'elles soient à la hausse ou à la baisse, sont complètement renversées par un prétraitement avec l'indométhacine, indiquant la participation des

métabolites de la cyclo-oxygénase. Une étude plus approfondie avec le furosémide révèle qu'il produit une élévation biphasique de la perméabilité capillaire, via l'angiotensine II et le thromboxane A_2 . Par contre, après dix jours de gavage, les effets de l'hydrochlorothiazide et de l'amiloride sont nuls, ceux du furosémide et de la cicléтанine sont grandement atténués et ceux de l'indapamide sont renversés.

Le traitement chronique avec des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (IEC) démontre que ces agents réduisent l'extravasation de BE, particulièrement le périndopril. Il en est de même pour deux antagonistes calciques, le vérapamil et surtout la nifédipine, alors qu'un troisième agent, le clentiazem, produit l'effet contraire.

Chez le SHR, la perméabilité capillaire témoin est plus élevée que chez le rat Wistar. Trois diurétiques, le furosémide, l'hydrochlorothiazide et la cicléтанine, réduisent l'extravasation de BE du SHR aux niveaux retrouvés chez le rat Wistar, alors que l'indapamide demeure relativement neutre. De même, le périndopril réduit de façon plus importante que le captopril la perméabilité capillaire chez le SHR. Finalement, la nifédipine et le clentiazem abaissent l'extravasation de BE chez le SHR, alors que le vérapamil n'a aucun effet.

Ainsi, divers agents antihypertenseurs modifient de façon hétérogène la perméabilité capillaire de lits vasculaires distincts. Ces changements pourraient contribuer à la redistribution interne des liquides en aigu et peut-être participer à long terme à certains effets vasculaires des antihypertenseurs.

INTRODUCTION

1. SYSTEME VASCULAIRE

1.1. Aspects historiques

Il y a 335 ans, Marcello Malpighi (1661) décrit l'existence de capillaires dans le mésentère de la grenouille et présente ainsi la dernière pièce d'évidence à la théorie de la circulation sanguine élaborée par William Harvey en 1618. Ce dernier avait en effet émis une hypothèse selon laquelle le retour du sang artériel vers le coeur à partir des extrémités s'effectue via des veines et est rendu possible grâce à l'existence de vaisseaux sanguins entre les artères et les veines. Cette hypothèse était jusqu'alors très controversée puisqu'elle présumait l'existence de vaisseaux invisibles à l'oeil nu. Ainsi, la recherche anatomique a été grandement avancée par l'invention du microscope par Anthony von Leuwenhoek (1632-1723), qui développe ensuite avec ses contemporains Jan Swammerdam et Friedrich Ruysch des techniques d'injection de colorants dans les vaisseaux. Entre 1841 et 1859, Friedrich Gustav Jacob Henle, Rudolf Albert von Koelliker et Frey démontrent que les capillaires ont leur propre paroi, une sorte de peau sans structure contenant des noyaux, identifiée comme étant une monocouche de cellules par von Recklinghausen en 1860. Cinq ans plus tard, G. Stricker fait l'identification de la nature des cellules qui composent la paroi vasculaire: les cellules endothéliales forment

une barrière inerte entre le côté luminal et abluminal des vaisseaux sanguins. Par contre, ce n'est qu'en 1901 que Wilhelm von Waldeyer-Hartz spécifie que ce nom s'applique uniquement à la couche interne des vaisseaux sanguins et lymphatiques.

L'étude du rôle de la paroi endothéliale dans l'échange d'eau et de solutés entre les compartiments vasculaire et interstitiel est amorcée d'abord par E.H. Starling en 1896, qui observe qu'il y a filtration aqueuse au niveau des vaisseaux lorsque la pression hydrostatique dans ceux-ci est supérieure à la pression osmotique des colloïdes. Dès 1903, Hermann Merkel note qu'un corps étranger peut irriter la paroi vasculaire, causant des lésions d'abord aux cellules endothéliales et entraînant éventuellement des altérations de la paroi vasculaire, notamment une prolifération vers l'intima du muscle lisse vasculaire. Par contre, ce n'est que 24 ans plus tard que E.M. Landis entreprend les premières études sur la perméabilité capillaire. Il démontre alors, suite à l'administration d'une solution acide, l'accumulation de particules de charbon au niveau des espaces intercellulaires le long de la paroi des capillaires accompagnée d'un oedème tissulaire. L'importance de l'endothélium sera élucidée avec le temps, alors qu'on découvrira ses interactions, son développement et ses fonctions (THILO-KÖRNER et HEINRICH, 1983). Avec la venue du microscope électronique, différents types de cellules endothéliales seront identifiés. Ceci encouragera l'étude de la corrélation entre la structure fine de l'endothélium et son rôle en tant que barrière sélective séparant le sang des tissus avoisinants (HAMMERSEN *et al.*, 1983).

1.2. Structure

Le réseau vasculaire est composé d'un système à haute pression, comprenant l'aorte, les artères et artérioles, et d'un système à basse pression, les capillaires et les veines. Le coeur assure la perfusion constante du réseau. À partir de cet organe, l'aorte et les artères de conductance distribuent le sang dans différents lits vasculaires, où elles se divisent pour former les artérioles de résistance. Ces dernières régulent la pression du système artériel et la perfusion des organes en aval. La paroi de l'aorte et des artères de conductance, qui est exposée à de fortes pressions, comprend, à part l'endothélium, plusieurs couches de cellules musculaires lisses séparées par des couches de fibres élastiques et de collagène, qui donnent à ces vaisseaux la capacité d'expansion et de contraction. Les capillaires et les veinules postcapillaires, dont les parois sont constituées uniquement de l'endothélium et de la membrane basale, avec ici et là des péricytes, forment le lieu d'échange de micro et macromolécules entre les compartiments vasculaire et interstitiel qui permet l'approvisionnement des tissus en nutriments et en oxygène, et le retour des produits de déchets dans la circulation. Les veines servent à drainer le réseau capillaire et contiennent à elles seules près de 70% du volume vasculaire. Ces vaisseaux ont une grande capacité de distension ce qui leur attribue l'appellation de "compartiment vasculaire réservoir", terme plus juste que "vaisseau de compliance", puisque le système de haute pression est lui aussi doté d'une certaine compliance.

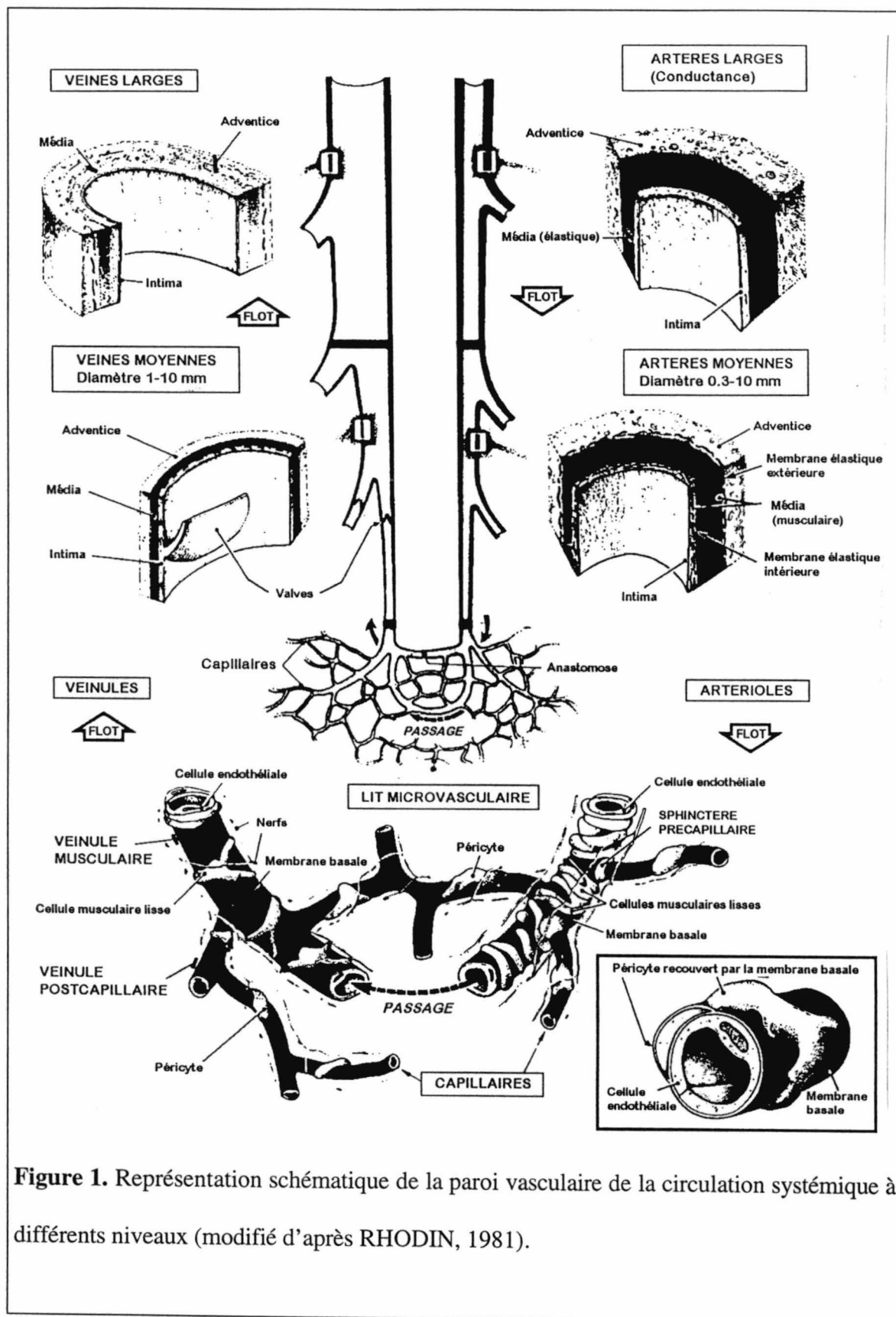


Figure 1. Représentation schématique de la paroi vasculaire de la circulation systémique à différents niveaux (modifié d'après RHODIN, 1981).

2. ULTRASTRUCTURE DES CAPILLAIRES

Les capillaires se divisent en trois types selon la morphologie des cellules endothéliales qu'ils contiennent. Les capillaires continus, qui se retrouvent notamment dans la peau, le muscle et le cerveau, sont les plus répandus. Apposées de près, les cellules endothéliales de ces capillaires limitent, particulièrement au niveau de la barrière hémato-encéphalique, le passage de macromolécules. Par contre, les capillaires fenêtrés, caractérisés par des perforations traversant les cellules endothéliales, parfois fermées par un diaphragme, sont plus perméables à l'eau et aux petites molécules que les capillaires continus, quoique généralement pas davantage perméables aux protéines. Les capillaires fenêtrés se retrouvent principalement dans le pancréas, le tractus gastro-intestinal, les glomérules et les vasa recta du rein. Finalement, dans le foie et la rate, dont les capillaires sont de type discontinu, les espaces interendothéliaux sont très importants, ce qui facilite l'échange de petites et de grosses molécules entre le sang et les tissus (RENKIN, 1992). Ainsi, la nature de la barrière présentée par l'endothélium régule l'échange entre le sang et les tissus (CLOUGH, 1991). Par ailleurs, les différences de perméabilité plus fines qui existent entre divers lits microvasculaires dépendent à la fois des propriétés intrinsèques et spécifiques des cellules endothéliales, du nombre de récepteurs et de la disponibilité des mécanismes de transduction (RABIET *et al.*, 1994), et de la nature des structures extracellulaires qui entourent ces cellules.

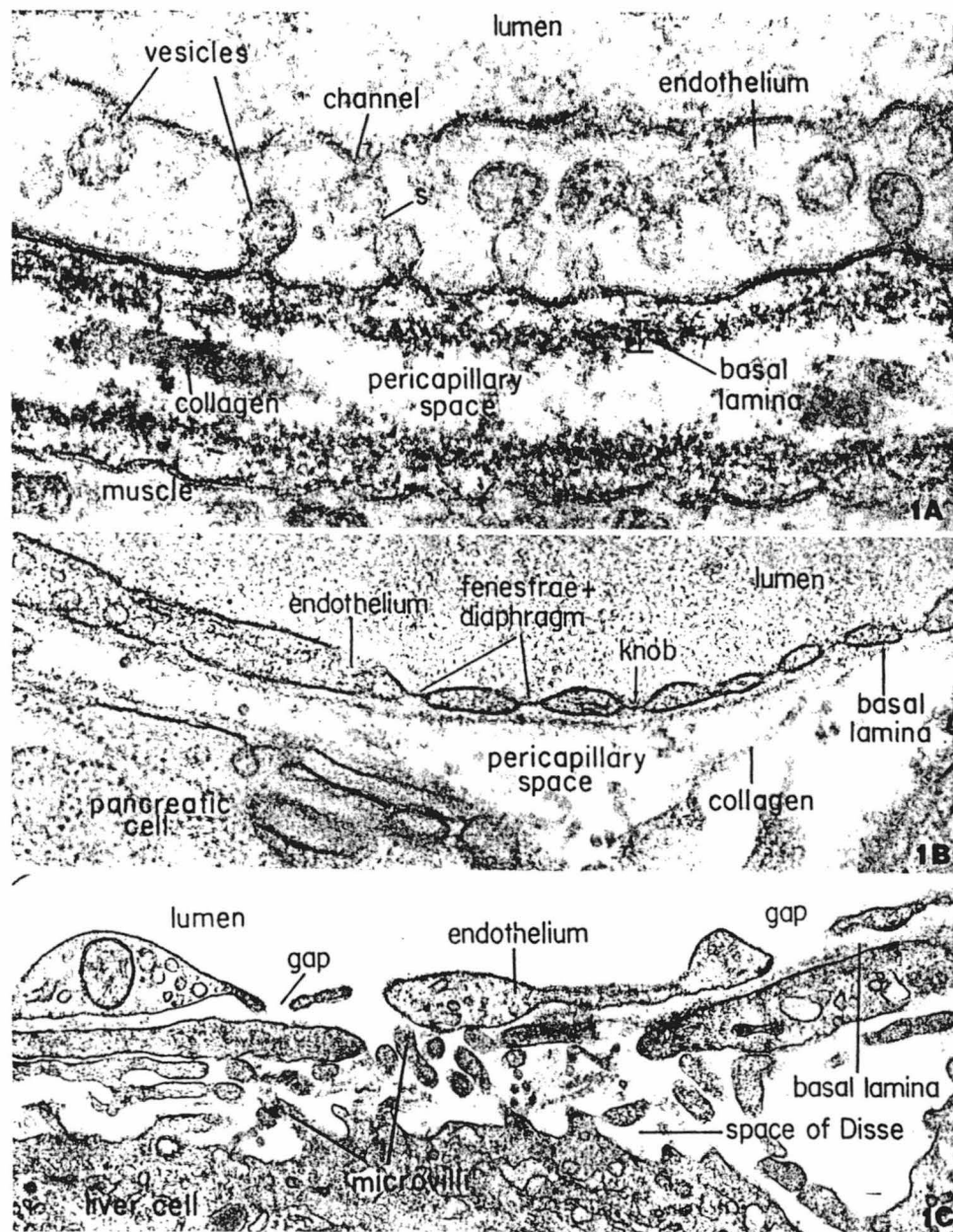


Figure 2. Trois types d'endothélium vasculaire: a) capillaire de type continu (diaphragme; 100,000x), b) capillaire de type fenêtré (pancréas; 58,500x), et c) capillaire de type discontinu (foie; 25,000x). (D'après ANDERSON, 1981)

2.1. Le glycocalyx

Le glycocalyx, formé de glycoprotéines dont la sécrétion est régulisée par l'endothélium, couvre la surface endothéliale, les espaces intercellulaires, les diaphragmes et les ouvertures des vésicules. Ce film de carbohydrates occupe une position lui attribuant un rôle de régulation de l'extravasation des molécules vers l'interstitium (MACFARLANE, 1964). C'est au niveau des petites veinules, site d'échange entre les compartiments vasculaire et interstitiel, que la densité et l'épaisseur du glycocalyx semblent être les plus importantes (SIMS et HORNE, 1994).

2.2. L'endothélium

L'endothélium est composé d'une monocouche de cellules endothéliales tapissant l'intérieur de tous les vaisseaux. La forme de ces cellules dépend en grande partie de l'arrangement du cytosquelette, qui comprend trois types de filaments cytoplasmiques: 1) microtubules, 2) filaments intermédiaires, et 3) microfilaments.

Les microtubules sont polymérisés par les centrosomes à partir de la tubuline et orientés (*in vivo*) le long de l'axe de la cellule (GOTTLIEB *et al.*, 1991). Ils sont impliqués dans le déplacement des chromosomes lors de la division cellulaire et participent au transport intracellulaire d'organelles cytoplasmiques telles que des granules de sécrétion (COOKE et POISNER, 1979). L'interaction des microtubules avec l'actine a été décrite

in vitro, et il a également été établi que les microtubules jouent un rôle important dans la disposition des filaments intermédiaires (BLOSE et CHACKO, 1976; DRENCKHAHN, 1983).

Les filaments intermédiaires, composés de vimentine et de desmine, sont moins dynamiques que les filaments et les microtubules (GOTTLIEB *et al.*, 1991). Ils forment des faisceaux lâches qui se retrouvent de part et d'autre de la cellule. Ces filaments sont particulièrement abondants dans des cellules exposées à un stress mécanique marqué, telles que les cellules des valves aortiques et de la rate. La fonction des filaments de vimentine demeure en grande partie inconnue, mais certains ont postulé qu'ils pourraient former un cytosquelette passif attribuant rigidité et viscosité au cytoplasme (DRENCKHAHN, 1983).

Des techniques d'immunobuvardage ont permis de mettre en évidence plusieurs types de microfilaments présents dans les cellules endothéliales, tels que l'actine, la myosine, la tropomyosine, l' α -actinine et la vinculine (SCHNITTLER *et al.*, 1990). L'actine, qui se trouve sous forme de filaments polymérisés (F-actine) ou de monomères globulaires (G-actine), est le constituant majeur des microfilaments. Dans les cellules endothéliales, la F-actine se retrouve 1) sous la membrane plasmique, où elle forme un réseau de filaments entrelacés plus abondant du côté luminal de la cellule, mais aussi présent du côté basolatéral, 2) dans des faisceaux de fibres de tension rectilignes parallèles à l'axe de la cellule, contenant également myosine, tropomyosine et α -actinine, abondants dans le système artériel où les cellules sont exposées à un certain stress mais rares dans l'endothélium veineux, et 3) en périphérie, où elle forme une bande dense périphérique avec d'autres microfilaments, tels que la myosine, la tropomyosine, l' α -actinine et la

vinculine, et est impliquée dans la liaison cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire via les intégrines (DRENCKHAHN, 1983; GOTTLIEB *et al.*, 1991; SCHNITTLER *et al.*, 1989). L'augmentation des forces de cisaillement induit une réorganisation des filaments d'actine périphériques, qui se transforment en faisceaux de fibres de tension distribués au centre de la cellule. (GOTTLIEB *et al.*, 1991). Ces fibres servent donc à maintenir la géométrie des microvaisseaux et fournissent une résistance aux forces de cisaillement (NEHLS *et al.*, 1991). Par contre, Il demeure incertain si les fibres stress jouent uniquement un rôle d'ancrage au substrat ou entre cellules, ou si elles confèrent aux cellules la capacité de contraction et de changement de forme (MOREL *et al.*, 1990).

2.2.1. Poisons du cytosquelette

Les différents éléments qui forment le cytosquelette sont composés de monomères qui s'associent et se dissocient continuellement, d'où leur nature dynamique. Certaines toxines peuvent altérer le taux de polymérisation de ces protéines, et modifier ainsi la morphologie des cellules.

Par exemple, la phalloïdine réduit la dissociation de filaments d'actine à près de zéro aux deux extrémités, et elle inhibe à 50% l'association des monomères à l'extrémité barbelée, le site principal de polymérisation. Ceci s'explique par un changement de conformation des molécules d'actine polymérisées à l'extrémité barbelée, ce qui solidifie l'interaction entre les sousunités adjacentes mais qui défavorise l'addition de nouveaux monomères (SAMPATH et POLLARD, 1991). Ainsi, la concentration critique sous

laquelle l'actine existe seulement sous forme de monomère est réduite (COOPER, 1987) et la quantité de F-actine est augmentée au détriment de l'actine soluble (G-actine) (SERPINSKAYA *et al.*, 1990). Ceci se traduit par une augmentation de la surface et du périmètre des cellules endothéliales (ALEXANDER *et al.*, 1988). Peu soluble, la phalloïdine pénètre la cellule par pino-endocytose. Son action pourrait être médiée par des récepteurs sans avoir directement accès au cytosquelette.

De façon similaire, la cytochalasine B se lie à l'extrémité barbelée des brins de F-actine ce qui empêche l'association et la dissociation des sousunités (COOPER, 1987; MACLEAN-FLETCHER et POLLARD, 1980). Par contre, puisque c'est à cette extrémité que l'association des monomères d'actine se fait en grande partie, alors qu'à l'autre extrémité, le site principal de dissociation, la dépolymérisation a toujours lieu, le résultat net est un raccourcissement des filaments d'actine. Ainsi, les cellules exposées à la cytochalasine B s'arrondissent (YAHARA *et al.*, 1982). La cytochalasine B inhibe également le transport de monosaccharides à travers la membrane plasmique (COOPER, 1987), quoique le transport vésiculaire soit accéléré par ce produit (LIU *et al.*, 1993). Les cytochalasines traversent la membrane cellulaire facilement et rapidement (COOPER, 1987).

L'oxide de phénylarsine, quant à elle, inhibe l'endocytose de façon irréversible, via un mécanisme impliquant la formation de structures cycliques avec certains groupes sulfahydriles des polymères qui composent les microtubules. Ce produit est également un puissant inhibiteur de la tyrosine phosphatase, et pourrait donc augmenter l'étanchéité de la barrière endothéliale via le maintien de la phosphorylation de protéines associées aux complexes de jonction intercellulaires (STADDON *et al.*, 1995).

Enfin, la colchicine dépolymérise les microtubules et change leur distribution normalement homogène, causant une accumulation focale. Ainsi, ce produit n'empêche pas l'endocytose complètement, mais réduit le transport des vésicules à l'intérieur des cellules (LIU *et al.*, 1993). De plus, cette toxine modifie l'emplacement des protéines associées aux jonctions intercellulaires, sans toutefois altérer l'intégrité de la bande d'actine périphérique (YAP *et al.*, 1995).

2.3. La membrane basale et la matrice extracellulaire

L'interstitium, qui comprend la membrane basale, située directement sous la couche endothéliale, et la matrice extracellulaire, qui forme un treillis périvasculaire, est composée de diverses protéines qui contribuent au maintien de la structure des vaisseaux et à la sélectivité de la barrière vasculaire (YURCHENCO et O'REAR, 1994). En effet, ces protéines réduisent le transport moléculaire à travers la membrane vasculaire en formant un filtre physique, stérique ou ionique. Le degré de ralentissement du trafic moléculaire dépend donc non seulement de la taille des molécules mais aussi de leur charge et de la physico-chimie de la matrice extracellulaire. La membrane basale des capillaires contient principalement du collagène de types IV et V et de laminine, alors que la matrice extracellulaire est composée de collagène de types I, III et V, de protéoglycans et de glycosaminoglycans (MADRI *et al.*, 1992). Seuls les capillaires du foie, de la rate et de la moelle osseuse ne possèdent pas de membrane basale. Dans les autres lits vasculaires, la

membrane basale forme une structure continue, séparant les cellules endothéliales des espaces tissulaires (MARTINEZ-HERNANDEZ, 1981).

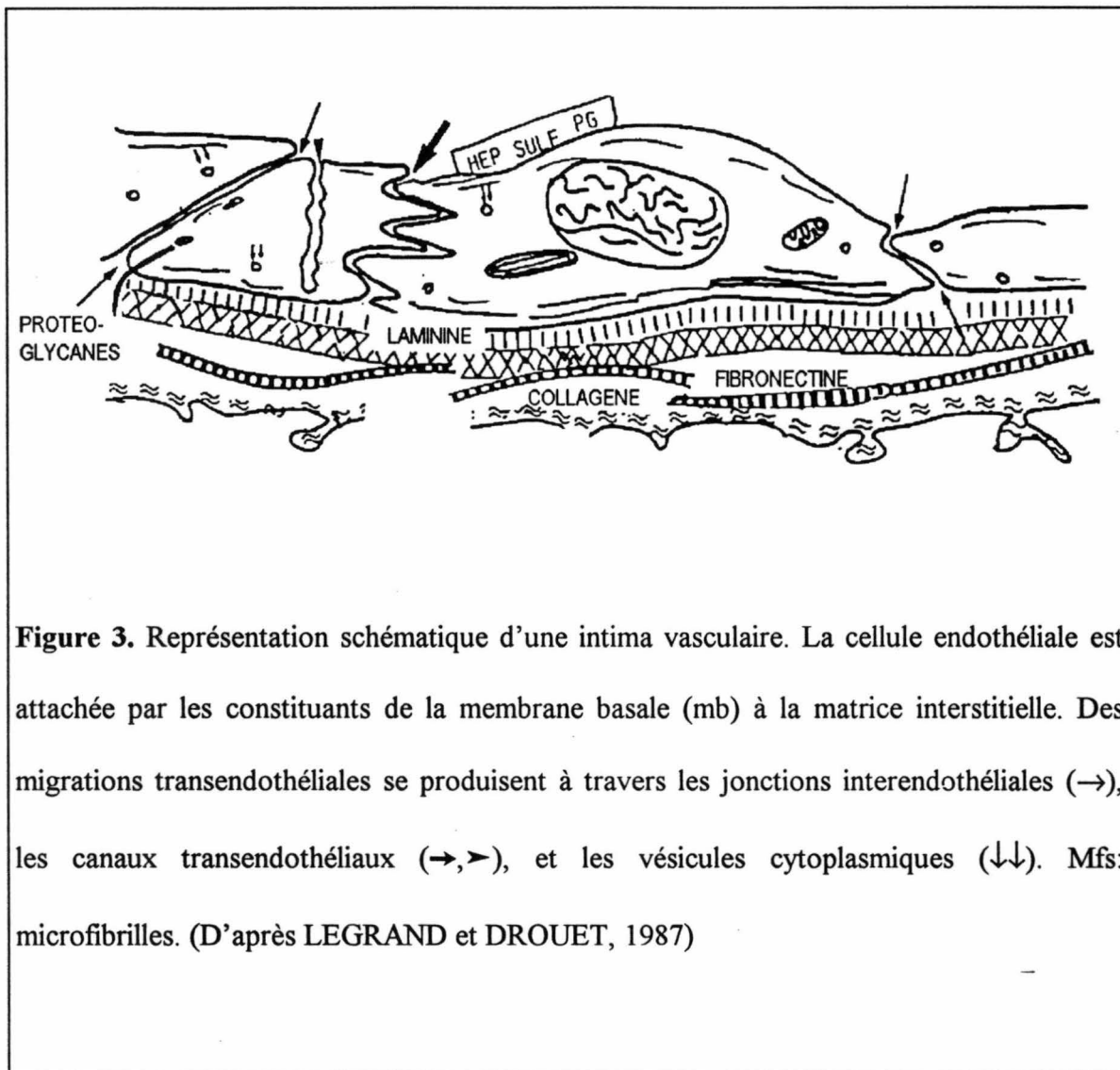


Figure 3. Représentation schématique d'une intima vasculaire. La cellule endothéliale est attachée par les constituants de la membrane basale (mb) à la matrice interstitielle. Des migrations transendothéliales se produisent à travers les jonctions interendothéliales (→), les canaux transendothéliaux (→, >), et les vésicules cytoplasmiques (↓↓). Mfs: microfibrilles. (D'après LEGRAND et DROUET, 1987)

Le collagène est formé de glycoprotéines synthétisées par l'endothélium, le muscle lisse vasculaire et les fibroblastes. Dans les gros vaisseaux, le collagène de types I et III

constitue les fibres de renforcement de la paroi vasculaire. Les filaments de collagène forment des triples hélices, le tropocollagène, qui s'agrègent pour produire des faisceaux de calibre variable, particulièrement larges dans la média et l'adventice des artères. Par contre, au niveau des capillaires, les collagènes de type IV et V prédominent, notamment dans la membrane basale où ils forment un treillis sous-endothélial, alors que le collagène de types I et III est absent (MADRI *et al.*, 1992). Les fibres de collagène retrouvés dans la membrane basale sont reliés par leurs extrémités non-hélicoïdales, ce qui les rend sensibles à l'action des protéases (ROBERT et BIREMBAUT, 1989).

Les protéoglycans, autres constituants qualitativement majeurs de la matrice extracellulaire, forment un treillis polyanionique interstitiel. Ces protéines comportent un axe central constitué de protéines sur lequel s'ajoutent des chaînes latérales de glycosaminoglycans. Quatre glycosaminoglycans, l'héparane sulfate, le chondroïtine-4-sulfate, le chondroïtine-6-sulphate et le dermatan-sulfate, sont ainsi reliés, alors qu'un cinquième, l'acide hyaluronique, fait le pont entre les différentes sous-unités pour produire un agrégat de protéoglycans. Ces macromolécules, surtout le dermatan-sulfate, sont fréquemment associées aux fibres de collagène dans la paroi des vaisseaux, et, de plus, l'héparan sulfate se retrouve en abondance dans la membrane basale, où il sert de ligand à plusieurs récepteurs cellulaires (YURCHENCO et O'REAR, 1994). Un des rôles physiologiques importants des protéoglycans est de contrôler le trafic moléculaire, formant un réseau de mailles pouvant entraver le passage de macromolécules entre les vaisseaux et les tissus, et d'intervenir dans l'équilibration ionique des tissus grâce à leur forte charge négative. La dégradation des protéoglycans est accomplie par des protéinases qui s'attaquent aux protéines centrales et par des endoglycosaminidases telle l'hyaluronidase,

l'héparinase et la chondroïtinase, qui diminuent la polymérisation de ces macromolécules et augmente ainsi la perméabilité des tissus (ROBERT et BIREMBAUT, 1989)

Plusieurs glycoprotéines de structure présentes dans l'interstitium des vaisseaux ont été identifiées et caractérisées. Entre autres, le rôle de la fibronectine dans la cohésion entre membrane cellulaire et matrice extracellulaire et l'interaction cellule-cellule a été particulièrement étudié (WHEATLY *et al.*, 1993), ainsi que l'importance de la laminine pour l'ancrage des cellules endothéliales au collagène de type IV. La fonction biologique et la localisation précises des autres glycoprotéines, quoique moins bien connues, s'apparentent à celles de la fibronectine et de la laminine. Au niveau des microvaisseaux, la fibronectine est présente dans l'interstitium, reliant endothélium et péricytes, alors que la laminine est particulièrement abondante dans la membrane basale, où se retrouvent également la fibuline et le nidogène, deux autres glycoprotéines qui forment des ponts entre la laminine et le collagène (YURCHENCO et O'REAR, 1994). Des modifications de la synthèse des glycoprotéines de structure ou leur catabolisme par des enzymes telles que les protéases pourraient altérer la perméabilité vasculaire et faciliter la migration cellulaire (ROBERT et BIREMBAUT, 1989).

2.3.1. Poisons de la matrice extracellulaire

La collagénase, qui se retrouve en abondance dans certaines plaies (peau) et dans les leucocytes, coupe les trois brins hélicoïdaux des fibres de collagène (ROBERT et BIREMBAUT, 1989). Similairement, l'hyaluronidase est une enzyme présente de façon

constitutive au niveau des vaisseaux et particulièrement dans la peau. Elle est activée dans certaines conditions où les échanges d'eau et des métabolites sont accrus par la diminution de la viscosité de la matrice extracellulaire. Cette enzyme brise les liaisons glycosides de l'acide hyaluronique et d'autres mucopolysaccharides. L'héparine est un glycosaminoglycan à activité anticoagulante, synthétisée et emmagasinée dans les mastocytes. Elle réduit de façon dose-dépendante l'héparan sulfate protéoglycan situé à la fois dans la membrane basale et la matrice interstitielle, sans affecter le contenu en fibronectine (GROGGER *et al.*, 1988; GURETZKI *et al.*, 1994). De plus, l'héparine accélère la conversion par le facteur de Hageman (facteur XII) de la prékallikréine en kallikréine, qui dégrade le kininogène. La bradykinine ainsi produite serait peut-être responsable, du moins en partie, de l'augmentation de la perméabilité vasculaire induite par l'héparine (REDDIGARI *et al.*, 1995).

2.4. Les péricytes

Les péricytes se retrouvent autour des microvaisseaux, entourant les capillaires et les veinules. Ces cellules ont des propriétés contractiles qui ressemblent à celles du muscle lisse vasculaire. Plutôt dispersées au niveau des capillaires, les péricytes forment une couche continue autour des veinules postcapillaires, où elles sont graduellement remplacées par le muscle lisse vasculaire (RHODIN, 1981). Comme les cellules endothéliales, les péricytes contribuent à la formation de composantes de la matrice extracellulaire telles que le collagène de types I, IV et VI et la fibronectine (HE et SPIRO, 1995; SHEPRO et MOREL, 1993). Les péricytes, en se contractant, pourraient exacerber l'extravasation paracellulaire de molécules dans le processus inflammatoire, en plus de synthétiser et sécréter un grand nombre d'agonistes vasoactifs (SHEPRO et MOREL, 1993).

3. PERMEABILITE CAPILLAIRE

3.1. Localisation

Le transport de solutés entre les compartiments vasculaire et interstitiel peut se faire entre ou à travers les cellules endothéliales. Il est probable que ces deux passages soient

impliqués aussi dans le flux de macromolécules à travers l'endothélium intact, et que ces propriétés de transport dépende du type d'endothélium et de son état physiologique (HOEK, 1992). En temps normal, l'endothélium microvasculaire continu est composé de cellules apposées de près qui empêche le trafic de protéines à travers la paroi vasculaire, mais qui permet aux petits ions et molécules organiques (acides aminés et glucose) de passer librement. De plus, il existe des pores dans la paroi qui résultent d'une séparation transitoire des cellules endothéliales et qui apparaissent en grands nombres lors de situations pathophysiologiques tel que l'inflammation.

MAJNO et PALADE (1961) furent les premiers à démontrer que l'histamine induit l'extravasation de macromolécules, et situe ce phénomène au niveau des veinules post-capillaires. Ensuite, un arrondissement des cellules endothéliales a été observé à la suite de l'administration de la bradykinine, suggérant une implication de la contraction endothéliale dans le phénomène de disjonction de ces cellules (MAJNO *et al.*, 1967). Divers médiateurs de l'inflammation produisent des espaces interendothéliaux dans les veinules post-capillaires via une contraction des cellules endothéliales, ce qui permet le passage de macromolécules (MILLER et SIMS, 1986). Ainsi, les cellules endothéliales des veinules postcapillaires sont sensibles à plusieurs médiateurs de l'inflammation. Par exemple, suite à l'injection du bleu Monastral, l'extravasation de ce colorant se trouve particulièrement abondante dans les plus petites veinules post-capillaires, aux jonctions intercellulaires (MCDONALD, 1994). Lorsque stimulées, les cellules endothéliales bombent vers la lumière vasculaire, formant des espaces entre les cellules et produisent ainsi une brèche permettant l'extravasation de constituants sanguins (LUM et MALIK, 1994).

3.2. Mécanismes endothéliaux

D'un point de vue morphologique, 4 constituants des cellules endothéliales semblent jouer un rôle dans la perméabilité d'un lit capillaire à l'albumine: 1) les vésicules intracytoplasmiques, 2) les canaux transendothéliaux, 3) les fenestrations endothéliales, et 4) les jonctions interendothéliales.

On associe les vésicules aux mécanismes de transport actif depuis leur première description par PALADE (1953). Au concept original de transport vésiculaire impliquant un système de vésicules se déplaçant d'un côté à l'autre de la cellule endothéliale succédèrent deux hypothèses. La première voulait que les macromolécules soient transférées d'une vésicule à l'autre par fusion et fission de celles-ci. La deuxième impliquait des ensembles de vésicules aux deux pôles de la cellule communiquant de façon transitoire et formant ainsi des canaux transendothéliaux (FRØKJÆR-JENSEN, 1980). Donc, l'eau et les petits solutés lipophiles franchissent la paroi vasculaire soit en passant à travers la membrane endothéliale, soit via les vésicules cytoplasmiques ou les jonctions interendothéliales. Par contre, le transport des solutés hydrophiles se limite aux vésicules cytoplasmiques ou au passage intercellulaire, qui est progressivement restreint avec l'augmentation de la taille de la molécule puisqu'il y a plusieurs ouvertures de 8nm et peu de 40-60 nm. (RENKIN, 1992). Par ailleurs, il existe une sialoglycoprotéine de 60 kDa (gp60), exprimée spécifiquement à la surface des cellules endothéliales dans des réseaux

microvasculaires continus, qui lie l'albumine pour le transport par vésicules plasmalemmales, ce qui facilite l'extravasation de cette protéine (SCHNITZER, 1992).

Les jonctions interendothéliales représentent une autre structure des capillaires impliquée dans la sélectivité de la barrière vasculaire. Les *zona occludens* ne cernent pas les cellules continuellement mais représentent des sites de fusion en point ou allongés. Ces sites d'adhésion sont peu nombreux entre les cellules endothéliales veineuses, ce qui explique l'échange moléculaire accru dans les veinules post-capillaires. Les faisceaux d'actine sont particulièrement concentrés dans les zones de jonction cellulaire, contribuant probablement à l'appareil d'apposition cellule-cellule (WELLES *et al.*, 1985).

Le rôle du cytosquelette dans le maintien de la barrière endothéliale a été grandement étudié dans des modèles *in vitro*. L'augmentation de la perméabilité endothéliale s'accompagne d'une réduction de la bande dense périphérique, d'une interaction avec la myosine (Ca^{+2} et ATP dépendant), et d'une réduction des plaques cellule-cellule de vimentine (GOTTLEIB *et al.*, 1991). En effet, il a été démontré que plusieurs médiateurs de l'inflammation, tels l'histamine (NIIMI *et al.*, 1992), le facteur d'activation plaquettaire (PAF) (NORTHOVER, 1992a) et la thrombine (LUM *et al.*, 1992), provoquent une réorganisation de la F-actine, qui se trouve normalement en bandes périphériques et se transforme en filaments cytoplasmiques traversant la cellule. La désintégration de bandes périphériques de F-actine et l'apparition de groupements d'actine dans la cellule, qui implique une dépolymérisation suivi d'une repolymérisation d'actine (LUM *et al.*, 1992), précèdent l'augmentation de la perméabilité endothéliale (PIPER *et al.*, 1992). Cette redistribution, qui se produit dans certains cas en moins de 10 minutes (NIIMI *et al.*, 1992), s'accompagne d'un arrondissement de la cellule endothéliale (NORTHOVER,

1992a), ce qui augmente la perméabilité des cellules endothéliales étudiées en monocouche.

Il semble que les cellules endothéliales peuvent se contracter par un mécanisme semblable à ce qui se retrouve au niveau des cellules musculaires lisses. Par exemple, l'augmentation de la perméabilité endothéliale coïncide avec une élévation du calcium intracellulaire (LUM *et al.*, 1992). De plus, les ionophores, en présence de Ca^{+2} , causent une hausse dramatique de la perméabilité transendothéliale via la formation de passages intercellulaires qui sont abolis par des antagonistes de la calmoduline (SUTTORP *et al.*, 1991). L'importance de la phosphorylation de la myosine par la kinase des chaînes légères de myosine (MLCK) et de l'interaction actine-myosine subséquente dans les phénomènes de la perméabilité ont également été démontrés (WYSOLMERSKI et LAGUNOFF, 1991). Une réduction de la phosphorylation de MLCK prévient en effet la rétraction des cellules endothéliales en monocouche induite par l'histamine (SHELDON *et al.*, 1993). La formation d'espaces interendothéliaux serait donc un mécanisme ATP-dépendent stimulé par le calcium et produit par l'interaction actine-myosine (SCHNITTLER *et al.*, 1990). D'autre part, la vinculine est phosphorylée par la protéine kinase C et la protéine kinase A, et pourrait également jouer un rôle dans le réarrangement des filaments d'actine périphériques (HOEK, 1992).

3.3. Forces de Starling

STARLING constate en 1896 qu'il y a filtration aqueuse lorsque la pression hydrostatique à l'intérieur des vaisseaux est supérieure à la pression osmotique des colloïdes. A partir de ses observations, il détermine la contribution des pressions hydrostatique et oncotique à l'échange des fluides entre les compartiments vasculaire et interstitiel:

$$J_v = L_p S [(P_c - P_i) - \sigma(\pi_c - \pi_i)]$$

Dans un lit microvasculaire donné, la filtration est donc fonction de la conductivité hydraulique (L_p) et de la surface d'échange des capillaires (S), qui ensemble, déterminent le coefficient de filtration ($L_p S$). Ce coefficient est influencé essentiellement par des hormones, tels que l'histamine, la thrombine, l'endothéline, la bradykinine, le PAF, le peptide natriurétique auriculaire, et les catécholaminines, qui modifient la perméabilité capillaire en agissant au niveau des cellules endothéliales ou du muscle lisse vasculaire (JOLES *et al.*, 1993; MAJNO *et al.*, 1967). De même, les mécanismes myogéniques responsables de l'autorégulation locale influencent le coefficient de filtration, particulièrement la surface d'échange des capillaires, et déterminent la pression intracapillaire (P_c) (JOLES *et al.*, 1993). Le coefficient de réflexion (σ) a une valeur de près de 1 dans la plupart des tissus, à part ceux dont la perméabilité est élevée, tel que le foie, où le coefficient est plus élevé. Finalement, la pression oncotique (π) est déterminée par la concentration locale de protéines, en particulier de l'albumine (JOLES *et al.*, 1993).

A l'extrémité artériolaire d'un lit capillaire, la pression hydrostatique intracapillaire (P_c) est généralement plus élevée que la pression hydrostatique interstitielle (P_i), ce qui

favorise l'extravasation de l'eau, des ions et des petites molécules. Ces pressions s'équilibrent éventuellement vers le milieu du réseau capillaire. Le retour du fluide à l'extrémité vénulaire est assuré par la pression oncotique intracapillaire (π_c), qui à ce niveau excède la pression oncotique interstitielle (π_i). En plus d'être déterminée par les pressions hydrostatique et oncotique transcapillaires, la distribution de volume entre le plasma et l'interstitium dépend aussi du flot lymphatique et de la compliance interstitielle (REED et WIIG, 1984). De fait, la matrice extracellulaire et la membrane basale, particulièrement le collagène de type IV, la fibronectine et la laminine, les cellules endothéliales et l'albumine, réduisent la conductivité hydraulique des vaisseaux (QIAO *et al.*, 1993).

Une augmentation de la pression hydrostatique des microvaisseaux, suite par exemple à une diminution de la résistance précapillaire et/ou une augmentation du tonus postcapillaire, serait en mesure d'augmenter le flux transvasculaire de fluide et de favoriser, si elle s'accompagne d'une élévation de la perméabilité capillaire, l'extravasation de protéines (HÜTTNER *et al.*, 1973). Au contraire, une réduction de la pression hydrostatique intracapillaire, occasionnée par une contraction des artérioles de résistance et/ou une vénodilatation, réduirait la sortie de fluide et des macromolécules du système vasculaire.

3.4. Conséquences d'une augmentation de la perméabilité

Dans le contexte de l'inflammation, une augmentation de la perméabilité est bénéfique puisqu'elle facilite l'apport de protéines plasmatiques contenant, entre autres, les composantes du complément ou des anticorps permettant une meilleure défense contre des micro-organismes infectieux (WILLIAMS *et al.*, 1988). Par contre, sur une grande échelle, une hausse du contenu interstitiel d'albumine serait susceptible d'affecter l'équilibre liquidien entre les compartiments vasculaire et interstitiel et de compromettre la fonction des tissus touchés (WILLIAMS *et al.*, 1988). En effet, une augmentation de la perméabilité vasculaire aux protéines pourrait entraîner, par augmentation de la pression oncotique interstitielle, des oedèmes au niveau de l'interstitium, occasionnant ainsi une maldistribution du volume sanguin et une augmentation de la distance pour la diffusion des nutriments (JEROME *et al.*, 1994), y compris l'oxygène (LAINE, 1988), entre le compartiment vasculaire et les tissus avoisinants. Cette augmentation de perméabilité serait également susceptible d'altérer les éléments structuraux des vaisseaux. Ainsi, une accumulation excessive de protéines pourrait causer des dommages physiques ou chimiques (DIAMOND et KARNOVSKY, 1986) induisant entre autres la phagocytose, la prolifération cellulaire et la surproduction de matrice extracellulaire (OLSON *et al.*, 1982). Par exemple, les régions du lit vasculaire identifiées par l'extravasation de bleu d'Evans, qui se lie à l'albumine, sont caractérisées par un glycocalyx plus mince et d'un renouvellement accéléré de cellules endothéliales (NEREM *et al.*, 1993). L'élévation de la pression interstitielle serait également en mesure de stimuler la formation de dépôts fibreux dans le compartiment sous-endothélial (LAINE et ALLEN, 1991). Finalement, une élévation de la perméabilité endothéliale de l'aorte pourrait augmenter l'accessibilité des agents vasoactifs circulants, notamment ceux liés à l'albumine, au muscle lisse vasculaire,

tout en réduisant le contrôle de l'endothélium sur ce tissu à cause de la hausse du volume interstitiel (PEACH et LOEB, 1987). Ainsi, une augmentation de la perméabilité capillaire serait en mesure de diminuer la capacité des organes de fonctionner, particulièrement lorsqu'il y a un effort à fournir (LAINE, 1988) et contribuer à la dysfonction des organes cibles dans certaines maladies (PINTER *et al.*, 1991).

4. HYPERTENSION ARTERIELLE

4.1. Généralités

L'hypertension artérielle se définit comme étant les limites supérieures de pression artérielle normale pour lesquelles le traitement entraînera une réduction de la morbidité et de la mortalité cardiovasculaire. Alors que l'hypertension ne modifie pas de façon immédiate l'état de santé des patients atteints, elle provoque à long terme des lésions vasculaires et l'atteinte de plusieurs organes cibles. En effet, la pression artérielle élevée demeure un des risques les plus importants du développement de maladies cardiovasculaires tels l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque, l'occlusion coronaire, l'insuffisance rénale et les accidents vasculaires cérébraux (SPENCE, 1987). Ainsi, le traitement antihypertenseur a pour objet d'éviter le développement de ces lésions et donc normaliser l'espérance de vie (PINKNEY et YUDKIN, 1994). Chez environ 10% des patients hypertendus, l'élévation de la pression artérielle est secondaire à une atteinte d'un

organe impliqué dans la régulation de la pression, suivant par exemple une maladie rénale dégénérative, une atteinte du cortex surrénalien, un rétrécissement de l'aorte ou de l'artère rénale, ou un phéochromocytome. Par contre, chez la plupart des patients, l'étiologie de l'hypertension est inconnue et elle est dite primaire ou essentielle (DETWEILER, 1980) Puisqu'une diminution du débit cardiaque ou des résistances périphériques peut conduire à une réduction de la pression sanguine, les différentes substances pharmacologiques disponibles pour le traitement de l'hypertension agissent sur l'un ou l'autre de ces paramètres ou sur les deux.

4.2. Traitement de l'hypertension

Plusieurs stratégies ont été élaborées dans le développement d'agents antihypertenseurs. Néanmoins, le traitement de l'hypertension demeure pour la plupart symptomatique, puisque dans la majorité des cas, les causes de cette maladie sont inconnues. Le contrôle normal de la pression artérielle est fonction du débit cardiaque et de la résistance périphérique. Le débit cardiaque dépend du rythme cardiaque, régulé par le système nerveux autonome, et du volume vasculaire, alors que la résistance périphérique dépend de l'état fonctionnel et de la structure des vaisseaux. Les médicaments ciblent donc différents centres de régulation de la pression, autant au niveau du système nerveux central et périphérique que des organes impliqués dans la circulation sanguine et la régulation des volumes de l'organisme, tels que le coeur, les vaisseaux, ou le rein.

Le sodium thiocyanate a été l'un des premiers agents chimiques utilisé dans le traitement de l'hypertension, par Treupel et Edinger en 1900. Potentiellement toxique et produisant de nombreux effets secondaires, ce produit sera éventuellement abandonné. Breuning accomplit la première sympathectomie chirurgicale en 1923, ouvrant le chemin à des opérations plus importantes développées par Peet en 1947 et Smithwick en 1953 (FREIS, 1990) et menant à la sympathectomie chimique avec des drogues telles que le chlorure de tétra-éthylammonium, l'hexaméthonium et la guanéthidine (REUBI, 1949; ESUNGE, 1991). L'hydralazine, un vasodilatateur encore utilisé aujourd'hui, est développé en 1949 (REUBI, 1949). Une des grandes étapes dans le traitement de l'hypertension est l'introduction par Freis, Wilson et Parish en 1957 du premier diurétique efficace par voie orale, le chlorothiazide (FREIS, 1990), qui remplace les diurétiques mercuriels, efficaces mais très toxiques, utilisés quelques années plus tôt. Viennent ensuite l' α -méthyldopa, élaborée en 1960 par Oates, Gillespie, Udenfriend et Sjoerdsma, les bêtabloquants, tel le propranolol décrit en 1964 par Prichard et Galliam, et finalement, dans les années 1980, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, dont le captopril est le prototype, et enfin, les bloqueurs des canaux calciques (ESUNGE, 1991).

4.2.1. Diurétiques

Les diurétiques figurent parmi les antihypertenseurs les plus utilisés (RAY *et al.*, 1986). Ce qui est étonnant c'est que les mécanismes par lesquels ils diminuent la pression artérielle, particulièrement à long terme, demeurent encore peu connus (BOCK et STEIN,

1988). L'action immédiate des diurétiques se situe au niveau du rein, où ils induisent une natriurèse et une diurèse, entraînant une diminution du volume vasculaire (ELLISON, 1991; HENDRY et ELLORY, 1988) qui reste sous la normale pendant quelques semaines (HANSEN, 1968). En effet, la réabsorption de Na^+ dans le rein est due en grande partie au gradient de concentration intracellulaire de cet ion créé par la pompe Na^+/K^+ ATPase. Dans différents segments du néphron, l'entrée du Na^+ dans les cellules se fait soit par un cotransport $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ (sensible au furosémide), par un cotransport Na^+/Cl^- (sensible à l'hydrochlorothiazide et à l'indapamide), par l'échangeur Na^+/K^+ (sensible aux prostaglandines rénales, stimulées par la cicléstanine), ou par canal sodique (sensible à l'amiloride) (ELLISON, 1994; HENDRY et ELLORY, 1988; DEBY *et al.*, 1989; MALHERBE *et al.*, 1988). En temps normal, 99.5% de ce qui est filtré au niveau des glomérules est réabsorbé, particulièrement au niveau du tubule proximal (70%), et de l'anse de Henle (20%), mais aussi dans les tubules distal (7%) et collecteur (2.5%). Toutefois, si la réabsorption proximale d'eau et de sel est réduite, il y aura une compensation au niveau des autres segments du néphron, notamment au niveau de l'anse de Henle, et par conséquent la réabsorption totale restera constante. Par contre, une réduction de la réabsorption au niveau de l'anse de Henle, du tubule distal ou du tubule collecteur ne pourra pas être compensée dans les segments en aval. La puissance des agents diurétiques varie selon leurs sites d'action, les plus efficaces agissant sur l'anse ascendante épaisse de Henle (REYES et LEARY, 1993). De plus, les diurétiques influencent le flot rénal plasmatique via l'activation de prostaglandines vasodilatatrices (ATTALAH, 1979; DATA *et al.*, 1978; FAVRE *et al.*, 1983; KIRCHNER *et al.*, 1987)

ou du système rénine-angiotensine, qui induit une vasoconstriction des artérioles efférentes (OSGOOD *et al.*, 1978).

L'effet initial des diurétiques sera donc une réduction du débit cardiaque, provoquée par la baisse du volume vasculaire, suivi d'une élévation de la résistance périphérique (DAVIDOV *et al.*, 1969) occasionnée, entre autres, par l'activation du système rénine-angiotensine (BOCK et STEIN, 1988). Chez les animaux traités aux diurétiques, l'équilibre sodique est restauré en deux à trois jours (SAFIRSTEIN et LEVITT, 1986) et le volume plasmatique se normalise graduellement (DAVIDOV *et al.*, 1969; LETH, 1970). Ceci coïncide avec la réduction progressive de la résistance périphérique (VAN BRUMMELEN *et al.*, 1980), due au moins en partie à la diminution du calcium intracellulaire dans le muscle lisse vasculaire (CHATTERJEE *et al.*, 1988; GARCIA *et al.*, 1990; MIRONNEAU, 1988). En effet, en bloquant l'entrée du Na^+ dans les cellules musculaires lisses, l'extrusion du Ca^{+2} est accrue via l'activation de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ (SAFIRSTEIN et LEVITT, 1986). La réduction de la réponse vasoconstrictrice aux substances vasoactives telles que l'angiotensine II et les catécholamines (AUGUET *et al.*, 1988; CAMPBELL et BRACKMAN, 1990), la relâche de prostaglandines (LUNDERGAN *et al.*, 1988), et l'altération du métabolisme ionique de l'hydrogène (ORTON *et al.*, 1990), du magnésium (CHRY SANT *et al.*, 1988; JAMES *et al.*, 1988), ou du phosphate (PLANTE *et al.*, 1988, 1991) au niveau du muscle lisse vasculaire pourrait également jouer un rôle important dans la diminution à long terme du tonus vasculaire.

4.2.2. *Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine*

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ont été développés suite à l'observation qu'il y a chez certains individus hypertendus, ainsi que dans des modèles expérimentaux d'hypertension, une concentration plasmatique élevée d'angiotensine II, un vasoconstricteur puissant agissant préférentiellement au niveau des artères et artérioles. Le précurseur de cette hormone, l'angiotensinogène, est synthétisé en grande partie dans le foie et libéré dans la circulation sanguine. Il est ensuite scindé par la rénine, provenant principalement des cellules juxtaglomérulaires du rein, pour former l'angiotensine I. Cette dernière est elle-même coupée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine, présente surtout au niveau des cellules endothéliales, produisant l'hormone active, l'angiotensine II. Dans les vaisseaux, l'angiotensine II se lie à son récepteur et active une cascade de seconds messagers qui vont entraîner une hausse du calcium intracellulaire et la contraction du muscle lisse vasculaire. Alors que l'angiotensine II circulante provient essentiellement des organes décrits plus haut, plusieurs tissus, dont les vaisseaux, comportent tous les éléments du système rénine-angiotensine, permettant ainsi une synthèse locale tissulaire d'angiotensine II (STOCK *et al.*, 1995).

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) préviennent la production de l'angiotensine II en occupant le site d'action de l'enzyme de conversion, empêchant la conversion de la prohormone en son métabolite actif (ONDETTI, 1988). Ils se distinguent par la nature du groupement actif, soit-il un groupement carboxyl (périndopril, énalapril, ramipril), sulfhydryl (captopril, zofenopril) ou phosphoryl (fosinopril). La plupart sont administrés sous forme de prodrogue, le captopril étant une

rare exception. Quoiqu'ils agissent en principe au même niveau, les IEC ont des affinités différentes pour la forme circulante ou tissulaire de l'enzyme de conversion, ce qui n'est pas sans intérêt puisque les effets des IEC sur la pression artérielle correspondent plus à l'inhibition de l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine tissulaire que plasmatique (NAFTILAN, 1994). Par ailleurs, les IEC à groupement actif carboxyl inhibent davantage l'aminopeptidase P que leurs équivalents à groupement sulfhydryl (HOOPER *et al.*, 1992).

4.2.3. Antagonistes calciques

Les canaux calciques de type L jouent un rôle majeur dans le couplage excitation-contraction des cellules du muscle lisse vasculaire (NARGEOT et CHARNET, 1994). En effet, une dépolarisation de ces cellules provoque l'ouverture voltage-dépendante des canaux de type L et l'influx de calcium. Ceci initie le processus de contraction impliquant l'interaction calcium/calmoduline, l'activation de la kinase des chaînes légères de myosine, la phosphorylation de la myosine et le glissement des fibres d'actine, induisant la contraction du muscle lisse vasculaire, qui augmente la résistance vasculaire. Les antagonistes calciques de différentes classes se lient à des endroits distincts sur ces canaux calciques, réduisant ainsi l'influx calcique et diminuant de ce fait la résistance périphérique, ce qui entraîne une baisse de la tension artérielle (NARGEOT et CHARNET, 1994). Les bloqueurs des canaux calciques de type L se divisent en trois classes qui se distinguent tant au niveau de la structure chimique qu'au mode d'action et

aux effets pharmacodynamiques: 1) les dihydropyridines, parmi lesquels se retrouve la nifédipine, sont les moins cardiosélectifs, 2) les phenylalkylamines, dont le vérapamil fait partie, et 3) les benzothiazépines, comprenant le diltiazem et ses dérivés, tel que le clentiazem (SCHWARTZ, 1992). D'autres antagonistes calciques, tels les dérivés de la pipérazine, bloquent le canal calcique de type L, mais ont aussi des activités sur d'autres canaux ioniques, en particulier le canal sodique.

4.3. Modèles animaux d'hypertension artérielle

Dans l'hypertension, comme dans plusieurs autres conditions pathophysiologiques, des modèles expérimentaux ont été mis au point afin de reproduire autant que possible chez l'animal ce que l'on retrouve chez l'homme. L'hypertension chronique peut être créée par diverses manipulations expérimentales qui imitent dans plusieurs cas l'hypertension secondaire. Par exemple, l'intérêt porté sur le rôle des reins dans la genèse de l'hypertension a été stimulé d'abord par Goldblatt, qui a rapporté que le rétrécissement d'une artère rénale avec ou sans l'ablation du rein contralatéral entraîne une élévation permanente de la pression artérielle (GOLDBLATT, 1958). Des études ultérieures permettent d'identifier la contribution du système rénine-angiotensine-aldostérone. Par contre, le système nerveux sympathique qui est mis en jeu dans d'autres types d'hypertension expérimentale a aussi été passablement étudié. Ainsi, chez le rat rendu hypertendu par rétrécissement de l'artère rénale, par administration d'acétate de désoxycorticostérone (DOCA), par une surcharge de sel ou par une néphrectomie

unilatérale, la sympathectomie et l'ablation de la médullosurrénale abaissent la pression sanguine (DEQUATTRO et MIURA, 1974). L'excès de sel a un effet variable dépendant de facteurs génétiques, tel que mis en évidence par la lignée de rats Dahl sensibles au sel. Chez cette souche, une réduction de la masse rénale augmente l'effet d'une surcharge en sel. La surcharge en sel produit d'abord une augmentation du volume des liquides extracellulaires, de la pression systémique et du débit cardiaque, qui se traduira éventuellement par une hausse de la résistance périphérique, illustrant la régulation à long terme de la pression artérielle par la fonction rénale et le volume des liquides de l'organisme (DETWEILER, 1980). Les nouveaux modèles d'hypertension artérielle sont les animaux transgéniques où, dans la plupart des cas, du matériel génétique est inséré dans des embryons, et qui permet également la délétion de gènes spécifiques. Jusqu'à maintenant, le gène qui a retenu le plus d'attention dans le domaine de l'hypertension est celui de la rénine (LANG *et al.*, 1994)

La forme d'hypertension héréditaire chez l'animal qui a le plus retenu l'attention est celle du rat spontanément hypertendu (SHR), qui se rapproche le plus de l'hypertension essentielle humaine (PFEFFER et FROLICH, 1973). Chez ces rats, la première phase de l'hypertension est caractérisée par la hausse du débit cardiaque malgré une résistance périphérique normale. Cet état se transforme avec l'âge, alors que le débit cardiaque se normalise et la résistance périphérique devient élevée (PFEFFER et FROLICH, 1973). Cette évolution s'accorde bien avec l'hypothèse voulant qu'un débit cardiaque élevé soit l'élément initiateur de l'hypertension chez l'homme, quoique chez le SHR, le cours du développement de l'hypertension n'est pas modifié si l'augmentation du débit cardiaque est empêchée (DETWEILER, 1980).

Par contre, un désavantage important des lignées de rats hypertendus est qu'en faisant des reproductions répétées des animaux, en choisissant ceux qui expriment toujours le trait désiré (en l'occurrence, l'hypertension artérielle), des génotypes n'ayant aucun lien avec la maladie ciblée peuvent être sélectionnés par inadvertance. En fait, après plusieurs croisements, les animaux hypertendus risquent de différer de leurs cousins normotendus sur plusieurs traits qui ne sont pas reliés à la maladie, et il devient difficile à ce moment de distinguer les paramètres dépendants ou non de l'hypertension, surtout que, dans la cas du SHR, son homologue normotendu (le rat Wistar-Kyoto, WKY) a été développé plusieurs générations plus tard, ajoutant à l'écart génotypique (RUBATTU *et al.*, 1995). En plus, les animaux avec hypertension génétique souffrent rarement de maladies cardiovasculaires, alors que chez l'homme ce sont ces maladies qui rendent important le traitement de la haute pression artérielle (RUBATTU *et al.*, 1995).

4.4. Anomalies de la perméabilité dans l'hypertension

Plusieurs auteurs ont noté une augmentation de la perméabilité capillaire dans plusieurs modèles animaux d'hypertension et chez des patients hypertendus. Par exemple, chez le rat spontanément hypertendu, il y a élévation du transport d'albumine transendothélial dans l'aorte (WU *et al.*, 1990) et les vaisseaux de conductance et de résistance. D'ailleurs, certains auteurs ont postulé que l'élévation de la perméabilité des artères et artérioles serait responsable de l'épaississement de la paroi des vaisseaux et du rétrécissement de la lumière, ce qui contribuerait davantage à élever la pression artérielle

(OLSEN, 1981). En fait, il y a une association entre l'élévation de la perméabilité de l'artère coronaire et le degré de fibrose périvasculaire chez des rats spontanément hypertendus (KUBOTA *et al.*, 1990). Par ailleurs, chez ces rats, les dépôts de lipides dans les artères mésentériques sont colocalisés avec les régions d'extravasation de peroxydase du raifort, suggérant que l'augmentation locale de la perméabilité endothéliale pourrait être à la fois cause et séquelle de ces dépôts (YAMORI *et al.*, 1975).

On retrouve également chez le rat avec hypertension chronique des lésions cérébrovasculaires avec extravasation de protéines qui se traduisent éventuellement par de l'oedème et de la nécrose au cerveau (NAG, 1984; TAGAMI *et al.*, 1991). La perméabilité aux protéines des microvaisseaux est augmentée dans le rein chez le SHR (PLANTE *et al.*, 1992), dans le rein, l'aorte, le myocarde et la rétine des rats DOCA avec surcharge en sel (LAINE, 1988). Les animaux hypertendus ont aussi une albuminurie élevée (LAINE, 1988; TOLINS et RAIJ, 1990). Finalement, chez le patient hypertendu, l'extravasation transcapillaire d'albumine est accrue, la protéinurie est marquée, et le ratio volume plasmatique/volume interstitiel est réduit malgré un volume total de liquide extracellulaire normal, indiquant un transfert du volume plasmatique vers l'interstitium (SHORE et TOOKE, 1994). Il semble que ces augmentations de perméabilité, du moins chez le SHR, seraient dues à l'accélération du transport vésiculaire dans les cellules endothéliales, en plus des modifications au niveau des jonctions de ces cellules (HAZAMA et SASAHARA, 1992).

5. BUTS

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à la perméabilité des vaisseaux et ont élaboré différentes méthodes pour l'étude de ce phénomène *in vitro* et *in vivo*. Parmi les techniques les plus utilisées sont celles qui consistent à évaluer le passage de macromolécules ou les changements de la résistance électrique à travers une monocouche de cellules endothéliales à confluence. Ces méthodes ont l'avantage de permettre l'étude de facteurs agissant sur l'étanchéité de la barrière endothéliale dans un milieu très contrôlé. Toutefois, elles présentent certains inconvénients. En effet, il existe des différences fondamentales entre les cellules endothéliales en culture et celles qui se retrouvent *in situ*. Les cellules endothéliales utilisées *in vitro* proviennent généralement d'aortes et quelques fois de veines, et ne sont donc pas nécessairement identiques à ce qui se retrouve dans la microcirculation (ALEXANDER *et al.*, 1991; DODGE *et al.*, 1991; MOREL *et al.*, 1990). De plus, la taille des cellules endothéliales varie en fonction du matériel sur lequel elles sont cultivées, que cela soit la fibronectine ou le collagène (MADRI *et al.*, 1992). Ainsi, quoique pratiques, les expériences effectuées avec des cellules en culture ne permettent qu'une compréhension limitée des mécanismes physiologiques complexes qui ont lieu au niveau de la barrière capillaire (MADRI *et al.*, 1992). D'autres chercheurs ont préféré étudier la perméabilité globale *in vivo*, par l'évaluation de la concentration sanguine décroissante de colorants se liant à l'albumine. Cette méthode a l'avantage d'être peu invasive, et donc utilisable chez l'homme. Par contre, elle permet uniquement une évaluation de la perméabilité globale de l'organisme.

Nous avons choisi de déterminer l'extravasation de l'albumine dans différents tissus. Ainsi, tous les facteurs et les structures impliqués dans la régulation physiologique (et pathophysiologique) de la perméabilité sont présents, ce qui a l'intérêt de permettre l'évaluation de ce paramètre dans un milieu inaltéré, mais qui rend l'interprétation des données plus compliquée, puisqu'il est difficile d'isoler les composantes vasculaires qui régulent la perméabilité capillaire. Le premier but de notre étude était donc d'évaluer *in vivo* la perméabilité capillaire chez le rat non-anesthésié, et d'identifier certains éléments impliqués dans le maintien de la barrière vasculaire en condition physiologique et lors de l'inflammation.

Par ailleurs, la perméabilité vasculaire aux macromolécules est élevée chez le patient hypertendu et dans plusieurs modèles expérimentaux d'hypertension artérielle. Alors que les agents antihypertenseurs disponibles maîtrisent généralement bien la pression sanguine, l'incidence des maladies associées à l'hypertension n'est pas pour autant complètement réduite (DZAU *et al.*, 1992). Or, on retrouve dans ces maladies, comme dans l'hypertension, une élévation de la perméabilité vasculaire qui n'est pas nécessairement normalisée par le traitement antihypertenseur. Ainsi, les agents antihypertenseurs pourraient avoir des effets indésirables liés aux médicaments utilisés, dont l'impact serait en mesure d'influer le pronostic de la maladie hypertensive elle-même. Étonnamment, personne à ce jour n'a étudié les effets du traitement antihypertenseur sur la perméabilité capillaire. Ainsi, le deuxième but de notre étude était de vérifier l'effet de divers agents antihypertenseurs sur la perméabilité capillaire et d'en évaluer les mécanismes d'action, chez le rat normotendu et chez le rat spontanément hypertendu.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL - BLEU D'EVANS

Le bleu d'Evans (BE), un colorant qui se lie à l'albumine, est dilué dans une solution saline physiologique (0.9% NaCl) à la concentration de 25 mg/ml. Ce produit est ensuite injecté à une dose de 20 mg/kg dans une solution saline isotonique. Cette dose, retrouvée dans la littérature (DAHLEN *et al.*, 1981), donne un taux de liaison de 0.5 mole de BE par mole d'albumine, bien en dessous du point de saturation de 14 moles de BE par mole d'albumine (LEVEEN et FISHMAN, 1947). L'injection (seringue 1 ml, aiguille 26½ G) se fait dans la veine caudale chez le rat non-anesthésié, qui est retenu dans une cage de contention et dont la queue est préalablement réchauffée avec de l'eau tiède afin d'en dilater les veines. Dix minutes plus tard, ce qui permet l'équilibration du contenu tissulaire en BE, le rat est décapité à l'aide d'une guillotine et exsanguiné. Le thorax est sectionné, l'apex du coeur est coupé et les poumons sont perfusés avec 5 ml de solution Kreb's (10 ml/min) via une canule insérée dans l'artère pulmonaire, afin d'en vider le colorant intravasculaire. Des tissus impliqués dans le bilan externe (duodénum, rein) et interne de l'eau (peau, muscle squelettique), ainsi que des organes thoraciques (coeur, bronche), splanchniques (foie, pancréas, rate) et l'aorte abdominale, sont disséqués.

Une fois prélevés, les tissus sont coupés en deux et pesés immédiatement. Une portion de chaque tissu est placée dans un four à 60°C pendant 24 heures puis repesée afin

d'obtenir le rapport poids humide/poids sec pour chaque tissu, de manière à ne pas sous-estimer la teneur en BE à cause d'un oedème local. Ce rapport ne varie que très peu d'une expérience à l'autre. L'autre portion est placée dans la formamide (100%; 4 ml/g tissu humide) pendant 24 heures, à l'abri de la lumière, ce qui permet l'extraction complète du colorant (UDAKA *et al.*, 1970). La concentration de BE dans la formamide, placée à 75 µl par puits dans des plaques de 96 puits, est évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre (Titertek Multiskan, Flow Lab.) lisant à 620 nm (PATTERSON *et al.*, 1992). Les résultats, calculés à partir d'une courbe standard de BE (0.5-25 µg/ml de formamide), sont exprimés en µg BE/g tissu sec.

1.1. Détermination de la concentration de bleu d'Evans extrait par la formamide

L'absorbance de BE dilué à des concentrations de 0.2 à 25 µg/ml de formamide, en tenant compte de la pureté du colorant, est évaluée par spectrophotométrie à 620 nm. Ceci permet de déterminer qu'une absorbance de 1 correspond à la concentration de 97.5 µg BE/ml formamide. Puisque 4 ml de formamide/g tissu humide sont ajoutés aux spécimens prélevés, l'équivalence pour une absorbance de 1 est de 390 µg BE/g tissu humide. Finalement, le rapport poids humide/poids sec de chaque tissu est calculé tel que décrit plus haut, et cette valeur est multipliée par la mesure de BE en µg/g tissu humide, donnant un résultat final en µg BE/g tissu sec.

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL - PRESSION ARTERIELLE

Les rats sont placés dans une cage chauffée à 37°C pendant 20-30 minutes afin de dilater l'artère caudale des animaux. Ils sont transférés dans une autre cage où ils sont anesthésiés avec 2.5% d'halothane pendant 3 à 5 minutes. Ils sont ensuite placés dans une cage de contention afin d'éviter leur déplacement lors du réveil. La mesure de la pression artérielle se fait à l'aide d'un sphygmomanomètre placé autour de la queue et relié à un transducteur. La moyenne de deux à quatre prises de pression obtenues à une minute d'intervalle avant le réveil des rats est retenue. La pression artérielle est évaluée les deux jours précédant le début des traitements aux antihypertenseurs (jours -2 et -1) et les deux derniers jours de traitement (jours 9 et 10). Les données obtenues sont regroupées, donnant des valeurs moyennes de la pression artérielle avant ou après traitement.

3. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm erreur type. Les données de BE et de la pression artérielle obtenues avec différents traitements dans différents groupes d'animaux sont comparées par analyse de variance. Ensuite, chaque groupe traité est comparé au témoin par la même méthode. Les valeurs de $P < 0.05$ sont considérées comme significatives.

4. TRAITEMENTS

Des rats Wistar mâles pesant 225-300g (ce qui correspond à 8-10 semaines d'âge) ou des rats spontanément hypertendus âgés de 8 semaines pesant 200-250 g, obtenus de la compagnie Charles River (St-Constant, Québec), sont utilisés dans les études de perméabilité capillaire.

4.1. Étude de la perméabilité de base au bleu d'Evans

Les valeurs témoin de l'extravasation de BE dans chaque tissu sont obtenues chez des rats ayant reçu uniquement une injection du colorant. Tel que décrit plus haut, le BE est dilué dans une solution saline isotonique à la concentration de 25 mg/ml et injecté à la dose de 20 mg/kg, 10 minutes avant le sacrifice des rats. La solution est conservée deux jours au maximum. Les traitements aigus, lorsque administrés 10 minutes avant le sacrifice des animaux, sont injectés en même temps que le BE.

La solution de Krebs, qui sert à rincer la circulation pulmonaire, est préparée dans un flacon de 500 ml et contient du NaCl (117.5 mM), du KCl (4.7 mM), du $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2.5 mM), du KH_2PO_4 (1.18 mM), du NaHCO_3 (25.0 mM) et du dextrose (5.5 mM). Le flacon est bien agité puis gazéifiée avec 95% O_2 et 5% CO_2 pendant 5 minutes. La solution de Krebs est préparée chaque jour.

4.2. Effets des poisons du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire

Les différents poisons du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire sont administrés dans la veine caudale des rats Wistar en même temps que le BE, 10 minutes avant le sacrifice des animaux.

La colchicine est diluée dans une solution saline isotonique. Elle est administrée à deux doses, 1.0 et 2.5 mg/kg, mais seule la deuxième induit des modifications de la perméabilité capillaire.

La cytochalasine B est solubilisée dans 0.1 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) avant l'ajout de solution saline isotonique pour compléter la dilution. Il faut utiliser le moins de DMSO possible puisque à concentration élevée ce composé risque d'augmenter la perméabilité capillaire. La dose de 0.15 mg/kg est utilisée, puisque la cytochalasine n'a aucun effet à la dose de 0.05 mg/kg.

La phalloïdine doit être manipulée avec beaucoup de précaution puisque c'est un agent extrêmement toxique. La dilution se fait par injection d'une solution saline isotonique à travers le bouchon du flacon. La dose utilisée (0.1 mg/kg) influence l'extravasation de BE sans produire, comme la fait la dose de 0.5 mg/kg, une détresse respiratoire chez les rats.

La dilution de l'oxide de phénylarsine se fait avec 0.2 ml de NaOH (0.5M), puis la solution est neutralisée avec la même quantité de HCl (1M) avant de finaliser la dilution avec une solution saline isotonique. La dose de 0.1 mg/kg suffit à inhiber le transport

vésiculaire (SCHELLING *et al.*, 1992), alors qu'à dose inférieure (0.05 mg/kg) ce produit n'altère pas la perméabilité capillaire.

Le PAF est utilisé comme agent inflammatoire de référence. Il est d'abord dissous dans une solution saline isotonique avant d'être distribué dans des aliquotes de 20 µg/µl et congelé à -20°C. La solution aliquote est diluée dans une solution saline isotonique puis maintenue dans de la glace pendant chaque expérience. Le PAF, utilisé à la dose de 1.0 µg/kg (HEBERT *et al.*, 1987), est administré par voie intraveineuse en même temps que le BE et les poisons du cytosquelette selon l'expérience, 10 minutes avant le sacrifice des rats.

Les trois produits agissant sur la matrice extracellulaire sont dilués dans une solution saline isotonique. L'héparine est administrée à la dose de 100 U/kg, ce qui correspond à la dose maximale employée chez l'homme comme traitement anticoagulant. La concentration de collagénase utilisée (1.0 mg/kg) produit des effets marqués sur la perméabilité capillaire sans causer de détresse respiratoire apparente. De même, l'injection de l'hyaluronidase à deux doses a permis de sélectionner celle (1.0 mg/kg) qui produit des effets sur la perméabilité capillaire sans modifier visiblement l'état physiologique des animaux ou causer des difficultés respiratoires.

4.3. Effets de différents agents antihypertenseurs

Des rats Wistar ou SHR reçoivent un traitement aigu ou chronique avec un agent antihypertenseur choisi, soit un diurétique, furosémide (0.5 mg/kg), hydrochlorothiazide (0.5 mg/kg), amiloride (0.3 mg/kg), ciclétanine (2.0 mg/kg) ou indapamide (0.04 mg/kg), un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC), captopril (3.0 mg/kg) ou périndopril (0.3 mg/kg), un bloqueur des canaux calciques, vérapamil (7.0 mg/kg), nifédipine (1.0 mg/kg) ou clentiazem (0.1 mg/kg). Tous les traitements aigus, à part l'amiloride, sont administrés par injection intraveineuse avec le BE, 10 minutes avant le sacrifice des rats. L'amiloride, qui précipite lorsque ajoutée au BE, est administrée par voie intraveineuse cinq minutes avant celui-ci, 15 minutes avant le sacrifice des rats. Le traitement chronique de dix jours se fait par gavage quotidien, introduit directement dans l'estomac des rats à l'aide d'une aiguille (14G) dont la pointe est coupée et remplacée par une boule de plomb. Les doses en mg/kg représentent la posologie maximale recommandée pour le traitement de l'hypertension chez l'homme. Les groupes expérimentaux sont composés de 5 à 6 rats.

4.3.1. Diurétiques

Le furosémide est disponible en ampoules de 2.0 ml (20 mg/ml). Le produit se dilue facilement dans une solution saline isotonique pour l'administration intraveineuse. Selon le

protocole expérimental, le furosémide est injecté avec le BE, ou 10, 20, 30, 40 ou 50 minutes avant le BE, soit 10 à 60 minutes avant le sacrifice des animaux. Pour les traitements par gavage, le furosémide est dilué dans de l'eau en quantité suffisante pour 10 jours et il est conservé au réfrigérateur, à l'abri de la lumière.

L'hydrochlorothiazide doit être diluée avec 0.2 ml de NaOH (0.5M) puis neutralisée avec 0.2 ml de HCl (1M). Cette solution est complétée avec une solution saline isotonique pour les études aiguës et avec de l'eau pour les études chroniques. L'hydrochlorothiazide est préparée dans un flacon de 100 ml pour les traitements par gavage et se conserve à l'abri de la lumière, au réfrigérateur.

Pour les traitements aigus et chroniques, l'amiloride est dissoute dans l'eau. Le produit dilué est maintenu dans la glace lors des expériences aiguës. La solution d'amiloride ne se conserve pas et doit donc être préparée à chaque jour pour les gavages.

La cicléthanine est solubilisée, comme l'hydrochlorothiazide, d'abord avec 0.2 ml de NaOH (0.5M) puis avec 0.2 ml de HCl (1M). La dilution est complétée avec une solution saline isotonique pour l'administration intraveineuse ou avec de l'eau pour les gavages. L'hydrochlorothiazide doit être préparée à chaque jour lors des traitements chroniques.

Finalement, l'indapamide est dissoute avec 0.2 ml d'éthanol (95%) avant d'être diluée avec de la solution saline isotonique ou de l'eau, pour les expériences aiguës ou chroniques respectivement. Sensible à la lumière, la solution d'indapamide est maintenue à l'obscurité lors des expériences en aigu. De plus, elle est préparée chaque jour pour les gavages.

4.3.2. Autres traitements antihypertenseurs

Contrairement aux diurétiques, les autres traitements antihypertenseurs sont administrés uniquement par gavage, pendant dix jours. Les deux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, le périndopril et le captopril, se diluent complètement dans l'eau. Parmi les antagonistes calciques, seul le clentiazem se dilue dans l'eau. La nifédipine et le vérapamil sont obtenus sous forme de comprimés, qui sont broyés en poudre fine et mis en suspension dans de l'eau pour les gavages.

4.3.3. Antagonistes et inhibiteurs

L'indométacine est un inhibiteur spécifique de la cyclo-oxygénase, l'enzyme qui permet la conversion d'acide arachidonique en prostaglandines G_2/H_2 , précurseurs des autres prostaglandines et du thromboxane A_2 . L'indométacine est d'abord diluée dans 0.2 ml d'éthanol (95%) puis chauffée pour bien la dissoudre. Une petite quantité de $NaHCO_3$ (≈ 50 mg) est ajoutée afin d'empêcher la précipitation de l'indométacine. La dilution est ensuite complétée avec de la solution saline isotonique. L'injection de l'indométacine (5.0 mg/kg) se fait par voie intrapéritonale, 60 minutes avant l'administration de l'agent diurétique.

Le L-655,240, un antagoniste non-peptidique du récepteur du thromboxane A_2 , se solubilise facilement dans une solution saline isotonique. Ce produit est administré par

voie intrapéritonale 60 minutes avant l'injection du furosémide ou a un temps équivalent avant l'administration de BE, selon le protocole. La dose utilisée (2.0 mg/kg) est suffisante pour inhiber les effets du thromboxane (CIRINO *et al.*, 1990).

Le L-158,809 est un antagoniste non-peptidique du récepteur AT₁ de l'angiotensine II (CHEN *et al.*, 1992). Il est dilué d'abord dans 0.2 ml de NaOH (0.5M) puis neutralisé avec 0.2 ml de HCl (1M). Selon le protocole expérimental, le L-158,809 est injecté par voie intraveineuse seul, ou 20 minutes avant l'administration du furosémide, soit 20 ou 80 minutes avant l'injection de BE dans les études de perméabilité capillaire. A la dose utilisée (0.3 mg/kg), il est démontré que le L-158,809 bloque efficacement les récepteurs de l'angiotensine II (CHENG *et al.*, 1994).

5. SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES

Amiloride: N-amidino-3,5-diamino-6-chloropyrazinecarboxamide, Sigma Chemicals, St. Louis, USA.

Bleu d'Evans (BE): acide 6,6'[(3,3'-diméthyl[1,1'-biphényl]-4,4'diyl)bis(azo)]bis[4-amino-5-hydroxy-1,3-naphtalènedisulfonique], Sigma Chemicals.

Captopril: (S)-1-(3-mercapto-2-méthyl-1-oxopropyl)-L-proline, Squibb Canada inc., Montréal, Canada.

Ciclétanine: 1,3-dihydro-3-p-chlorophényl-7-hydroxy-6-méthyl-furo-(3,4c) pyridine hydrochloride (BN-1270-AA), don généreux de P. Braquet, Institut Henri Beaufour, Paris, France.

Clentiazem: (+)-(2S,3S)-3-actoxy-8-chloro-5-(2-diméthylamino)éthyl-2,3-dihydro-2-(4-meth-oxyphényl)-1,5-benzothiazépine-4-(5H)-one, Laboratoires Nordic inc., Laval, Canada.

Colchicine: N-(5,6,7,9-tetrahydro-1,2,3,10-tetraméthoxy-9-oxobenz[a]haptelen-7-yl) acétamide, de *Colchicum autumnale*, Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA.

Collagénase: clostridiopeptidase A, de *Clostridium histolyticum*, Sigma Chemicals.

Cytochalasine B: 7,20-dihydroxy-16-méthyl-10-phényl-24-oxo[14]cytochala-6(12),13,21-triène-1,23-dione, de *Phoma* sp., Aldrich Chemical Company.

Facteur d'activation plaquettaire (PAF): 1-O-hexadecyl-2-O-acetyl-sn-glycero-3-phosphoryl-choline, Bachem, Bâle, Suisse.

Furosémide: acide 4-chloro-N-furfuryl-5-sulfamoylanthranilique, Sabex Inc., Boucherville, Canada.

Héparine: acide héparinique, Organo Teknika, Toronto, Canada.

Hyaluronidase: hyaluroglucosaminidase, hyaluronate 4-glycanohydrolase, Sigma Chemicals.

Hydralazine: 1-hydrazinophthalazine, Ciba, Dorval, Canada.

Hydrochlorothiazide: 6-chloro-3,4-dihydro-6-sulfamoylbenzo-1,2,4-thiadiazine 1,1-dioxyde, Novopharm LTD, Scarborough, Canada.

Indapamide: N-[4-chloro-3-sulfamoylbenzamido]-2-methylindoline, Sigma Chemicals.

Indométacine: acide 1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1H-indole-3-acétique,
Sigma Chemicals.

L-158,809: Merck Frosst, Kirkland, Canada.

L-655,240: Merck Frosst, Kirkland, Canada.

Nifédipine: acide 1,4-dihydro-2,6-diméthyl-4-(2-nitrophényl)-3,5-pyridinedicarboxylique
diméthyl ester, Miles Canada inc., Etobicoke, Canada.

Périndopril: acide [2S-[1-[R*,(R*)],2 α ,3 α ,7 α]]-1-[2-[[1-(éthoxycarbonyl)butyl]
amino]-1-oxopropyl]octahydro-1H-indole-2-carboxylique, Servier Canada inc., Laval,
Canada.

Phalloïdine: phallotoxine, de *Amanita phalloïdes*, Sigma Chemicals.

Phenylarsine oxide: oxophénylarsine, Sigma Chemicals.

Tertatolol: (\pm)-1-[(3,4-dihydro-2H-1-benzothiopyran-8-yl)oxyl]-3-[(1,1-diméthyléthyl)
amino]-2-propanol, Servier Canada inc.

Vérapamil: α -[3-[[2-(3,4-diméthoxyphényl)éthyl]méthylamino]propyl]-3,4-diméthoxy- α -
(1-méthyléthyl)-benzeneacetonitrile, Searle Canada inc., Oakville, Canada.

SECTION I - VALIDATION DU MODELE D'ÉTUDES

1. RÉSULTATS

1.1. Évaluation de la perméabilité capillaire basale

La perméabilité capillaire des tissus est évaluée à l'aide du bleu d'Evans, qui permet de quantifier l'extravasation d'albumine liée à ce colorant. La figure 4 illustre bien l'hétérogénéité de la perméabilité de base de différents réseaux capillaires. La peau, par exemple, est peu perméable à l'albumine, alors qu'au contraire, l'extravasation de BE est particulièrement prononcée au niveau de la rate. Les divers tissus choisis dans les expériences se distinguent par leurs types de capillaires (continu, discontinu, fenêtré), leurs territoires de microcirculation (thoracique, splanchnique, périphérique) ou leur contribution à l'équilibre interne ou externe des liquides (rein, intestin). La perméabilité capillaire du poumon, qui représente un réseau de perfusion unique, a été évaluée dans la majorité des groupes expérimentaux, mais puisque ce tissu est peu touché par des agents agissant sur la perméabilité, nous avons préféré ne pas l'inclure parmi les résultats. Dans une deuxième série de rats témoins, la circulation périphérique a été perfusée avec une solution Krebs jusqu'à ce que le retour veineux soit clair (~10 ml de liquide de perfusion) afin de bien évacuer le contenu sanguin. Le contenu en BE des tissus est essentiellement identique à ce qui est retrouvé chez les rats sans perfusion périphérique (Figure 5). En effet, seul le contenu en BE du cœur est légèrement réduit (13%, $P < 0.05$),

Figure 4. Perméabilité capillaire témoin de différents tissus. L'extravasation d'albumine dans les tissus est évaluée à l'aide du bleu d'Evans (BE; 20 mg/kg i.v.). n=6

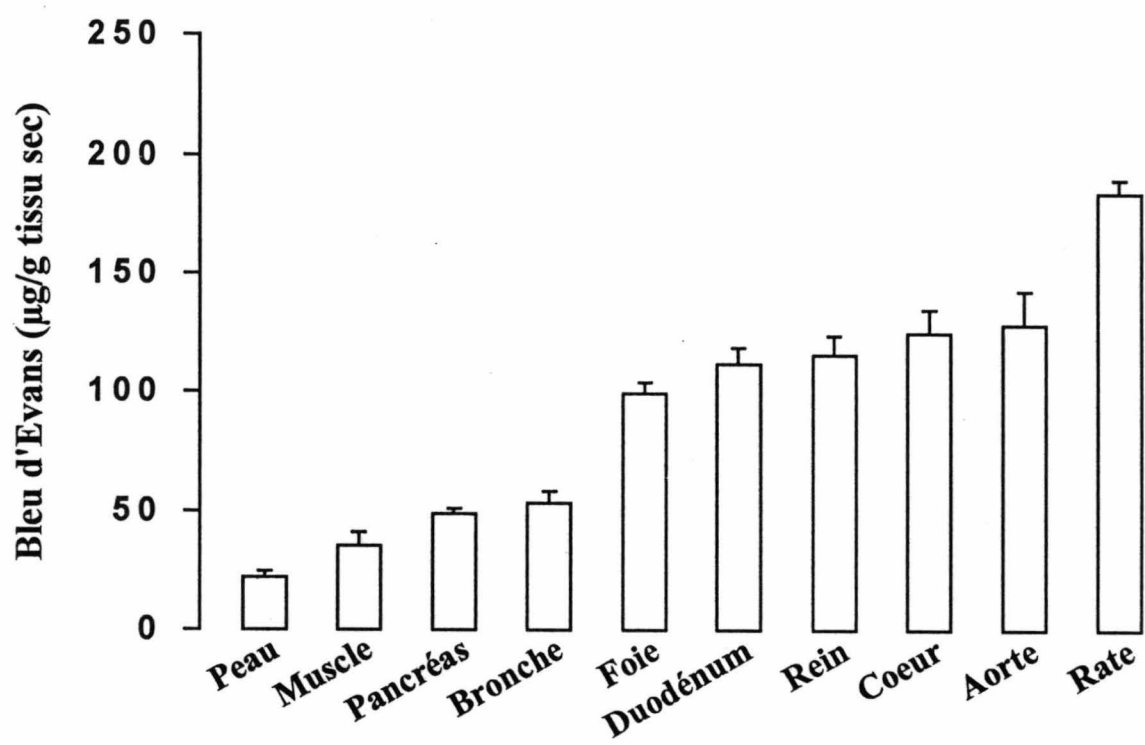
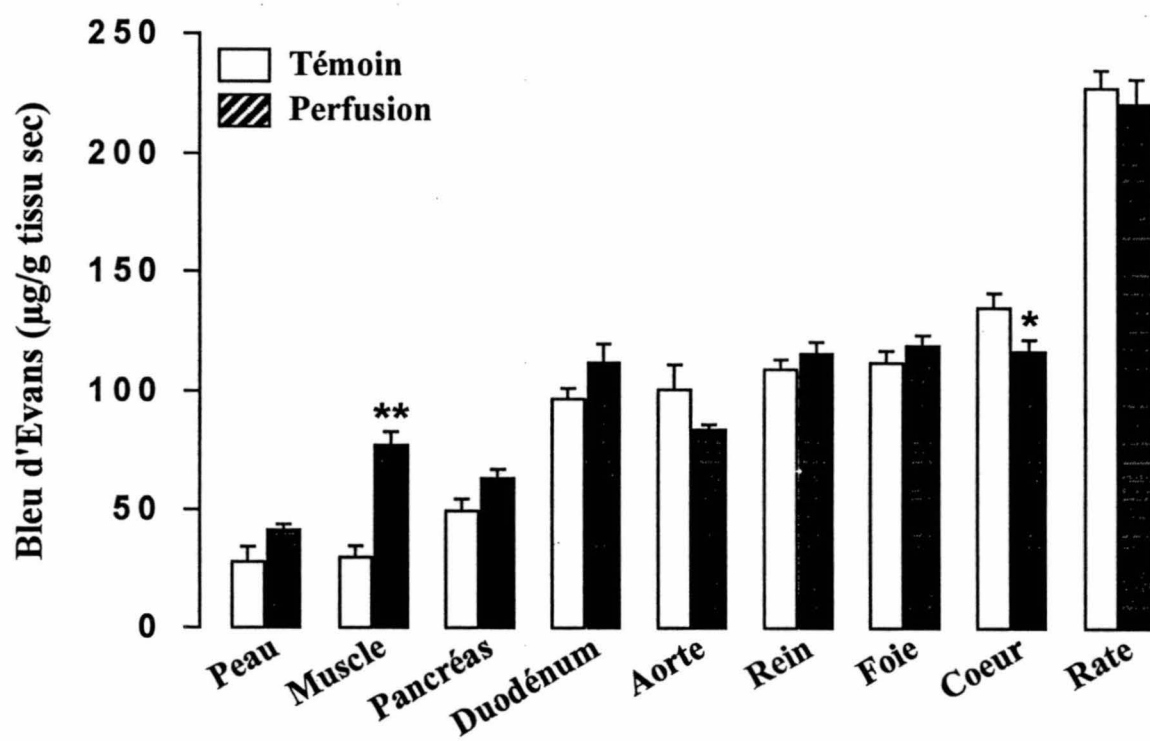


Figure 5. Perméabilité capillaire témoin de différents tissus après perfusion du système périphérique avec une solution Krebs. * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs rats témoins sans perfusion. $n=6$.



alors que le muscle squelettique semble contenir davantage de BE dans cette condition (159%, $P < 0,01$). Ceci s'expliquerait par une relâche post-mortem d'hormones volorégulatrices (tel que l'ANF) stimulée par l'afflux de solution Krebs. Puisque le rinçage systémique ne modifie pas le contenu en BE de la plupart des tissus, cette étape n'est pas répétée dans les expériences suivantes.

1.2. Rôle du cytosquelette et de la matrice extracellulaire

Les effets de différents produits agissant sur des composantes du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire sont présentés sur les figures 6 à 14. L'extravasation de BE est évaluée dans des tissus avec endothélium de type fenêtré (pancréas, rein, duodénum), discontinu (foie, rate) ou continu (peau, muscle, bronche externe, aorte abdominale, coeur).

La colchicine, qui dépolymérise les microtubules, augmente la perméabilité capillaire uniquement au niveau du pancréas (26%; $P < 0,01$) et de la bronche externe (74%; $P < 0,01$; figure 6). Par contre, l'inhibition de la polymérisation des microfilaments avec la cytochalasine B a des répercussions dans la plupart des tissus (figure 7). En effet, cet agent augmente l'extravasation de BE dans le pancréas (53%; $P < 0,05$), le rein (38%; $P < 0,01$), le duodénum (19%; $P < 0,01$), le foie (44%; $P < 0,01$), la rate (35%; $P < 0,01$), le muscle (139%; $P < 0,01$), la bronche externe (32%; $P < 0,05$) et le coeur (76%; $P < 0,01$).

Les agents favorisant plutôt la stabilisation des microtubules et des microfilaments ont tendance à réduire la perméabilité capillaire. Par exemple, l'oxide de phénylarsine, qui

Figure 6. Effets de la colchicine sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la colchicine (2.5 mg/kg). Les tissus choisis sont caractérisés par l'endothélium de type fenêtré (pancréas, rein, duodénum), discontinu (foie, rate) ou continu (peau, muscle squelettique, bronche, aorte, coeur). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. n=5-6.

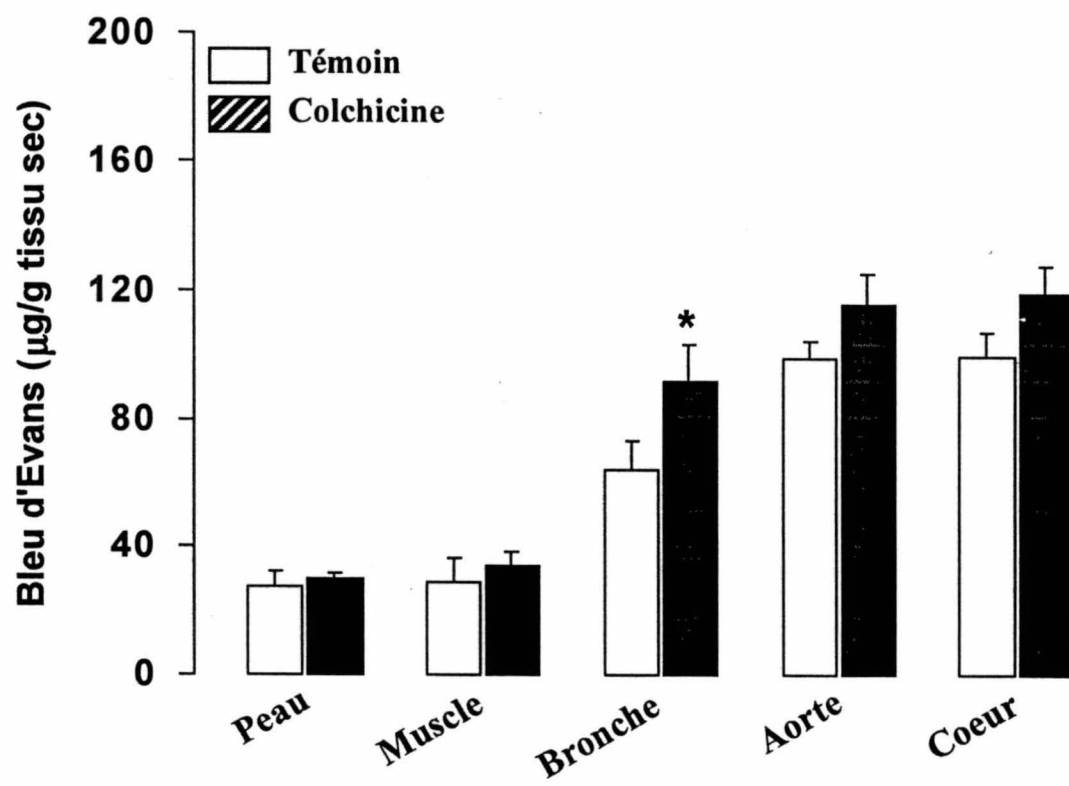
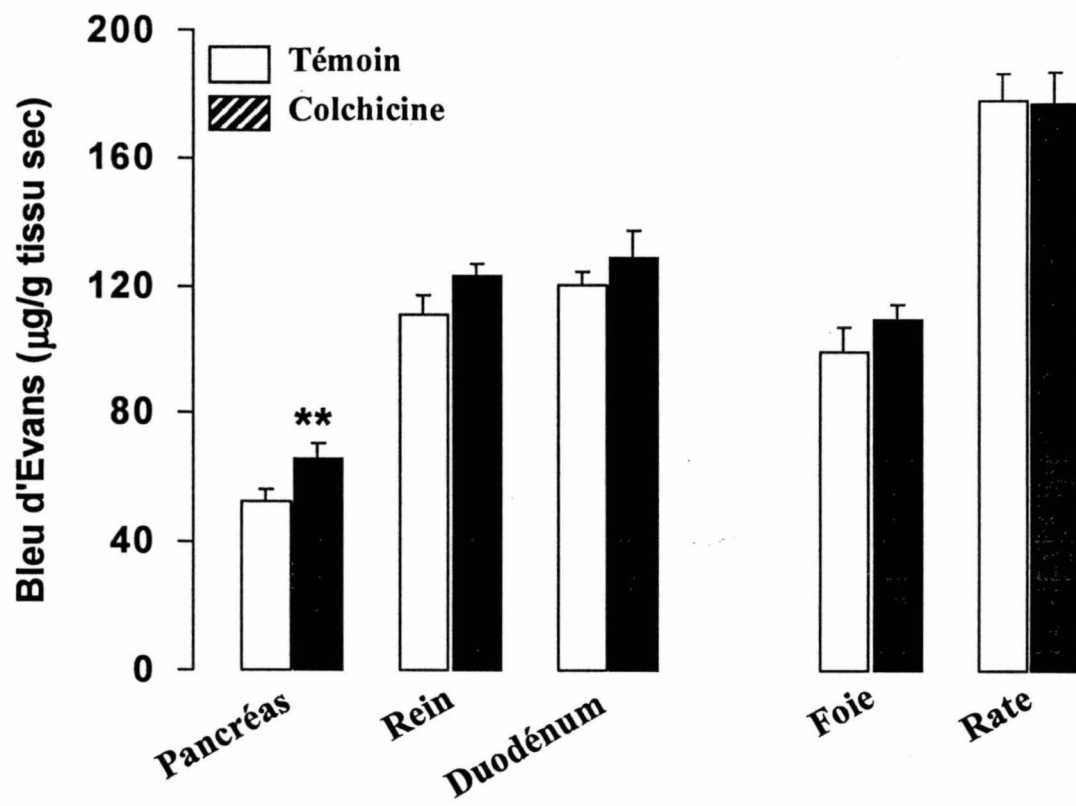


Figure 7. Effets de la cytochalasine B sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la cytochalasine B (0.15 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=5-6$.

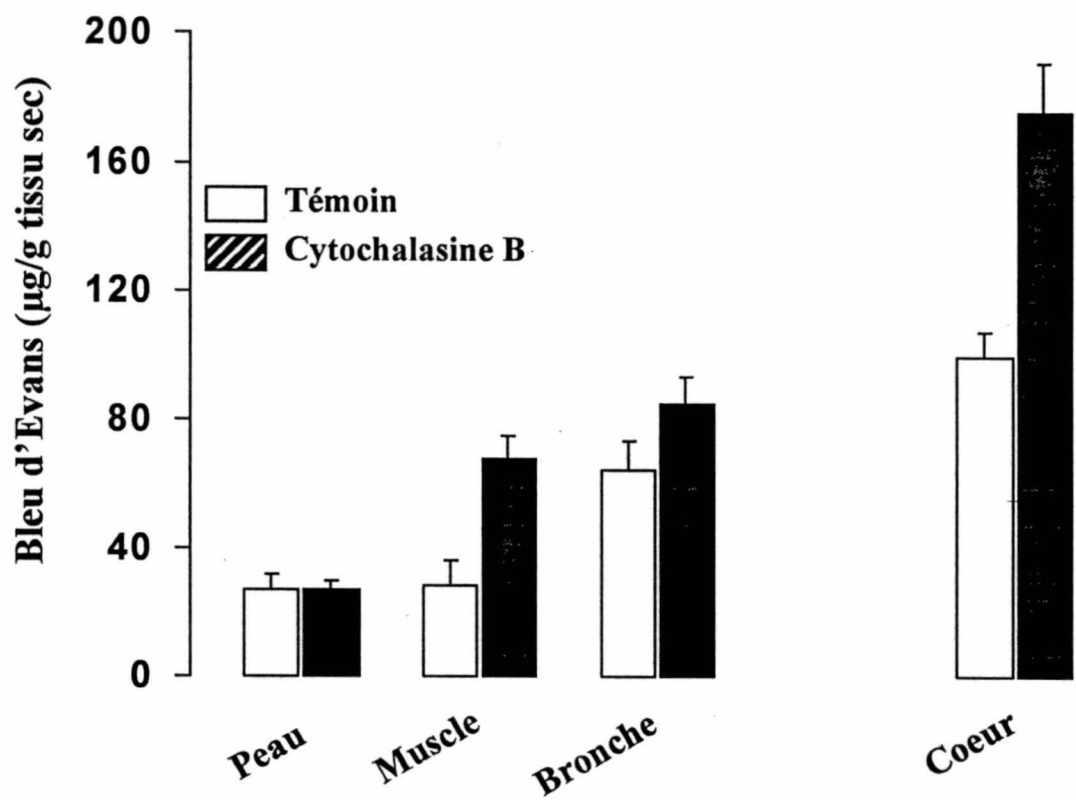
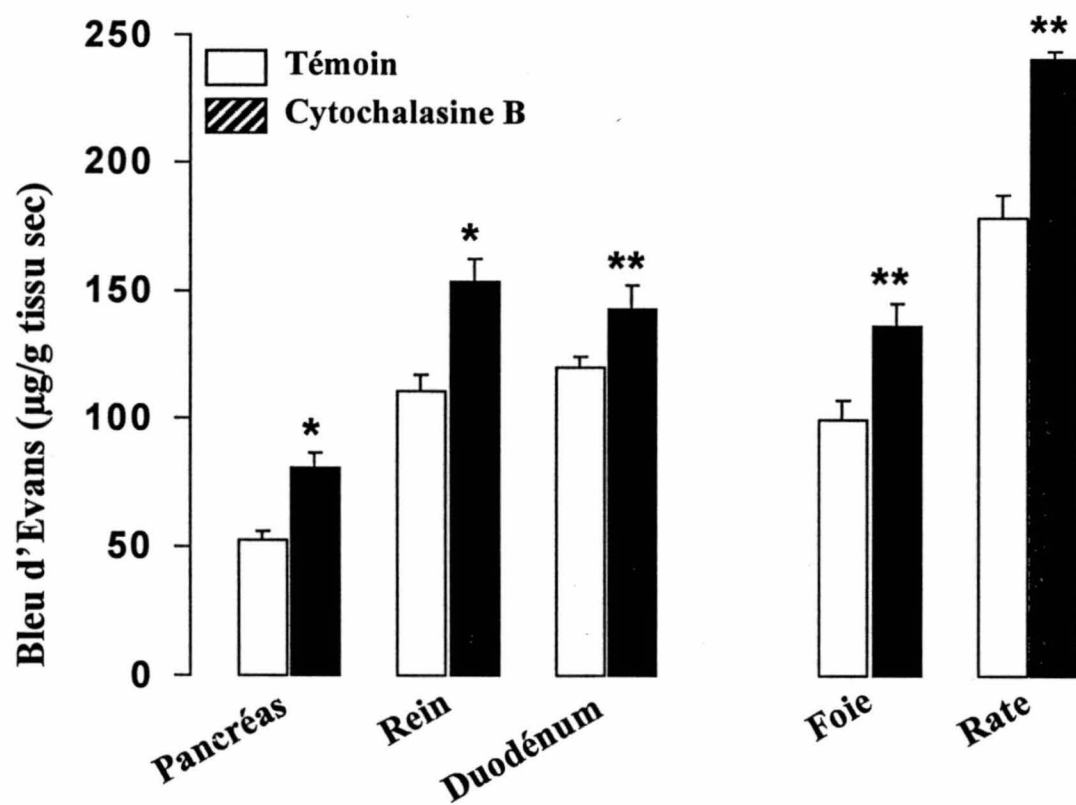


Figure 8. Effets de l'oxide de phénylarsine sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'oxide de phénylarsine (0.1 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. n=5-6.

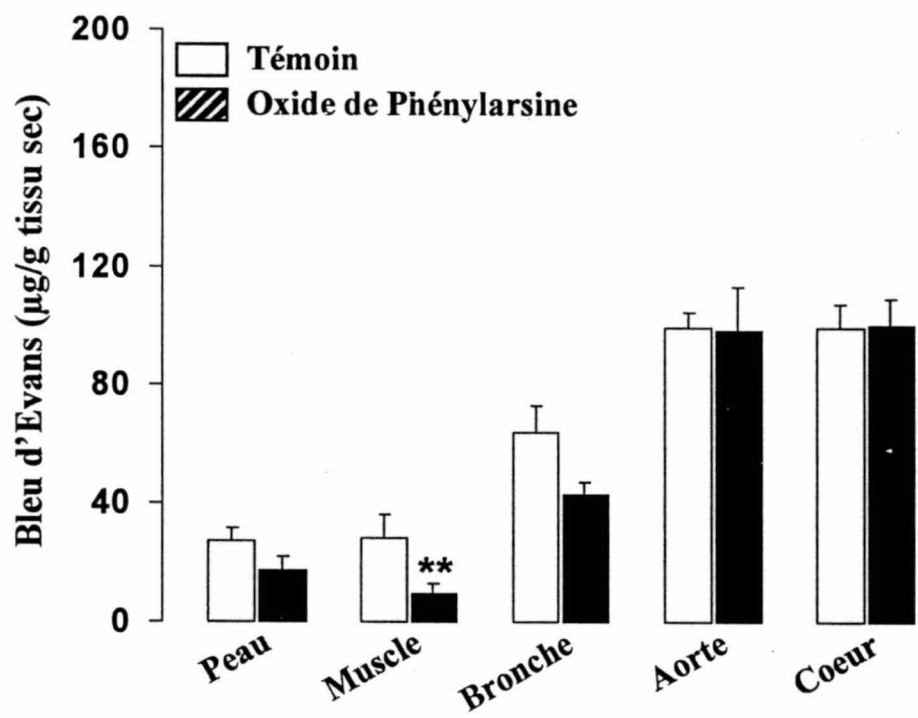
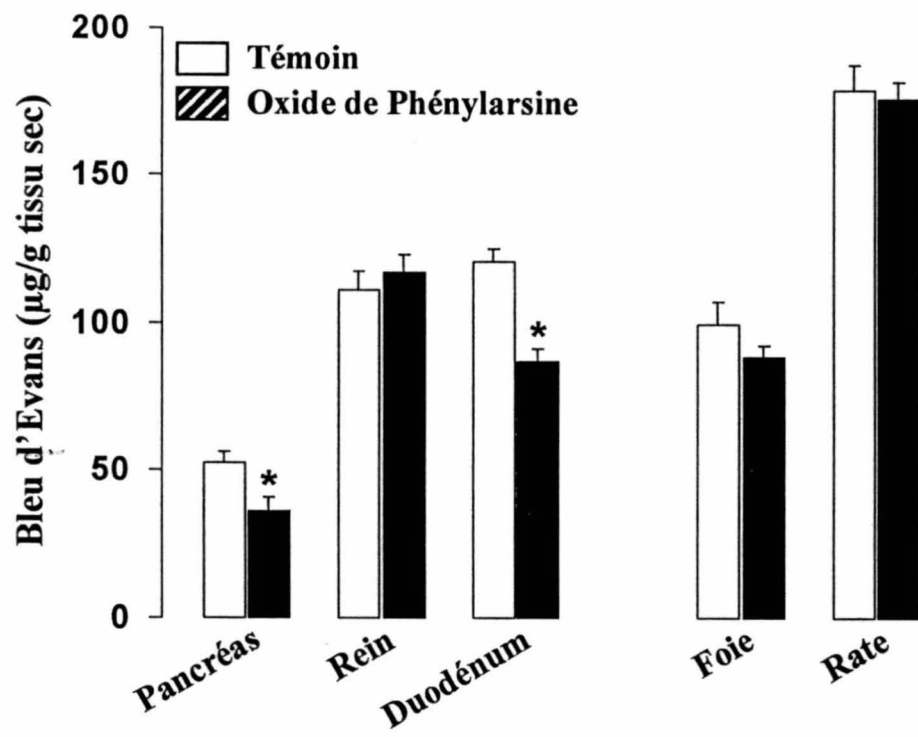
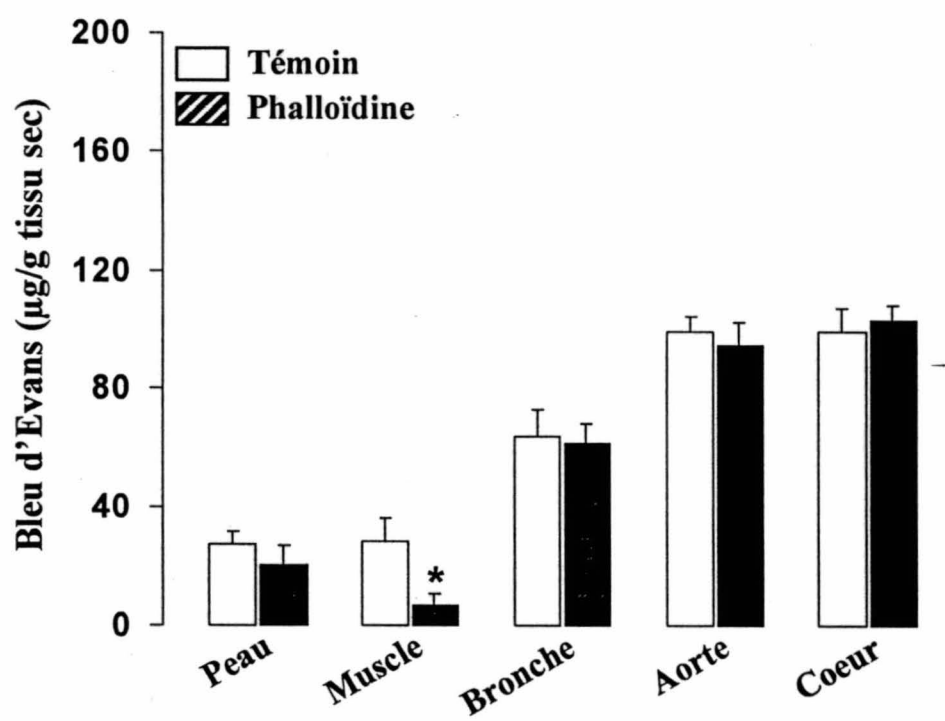
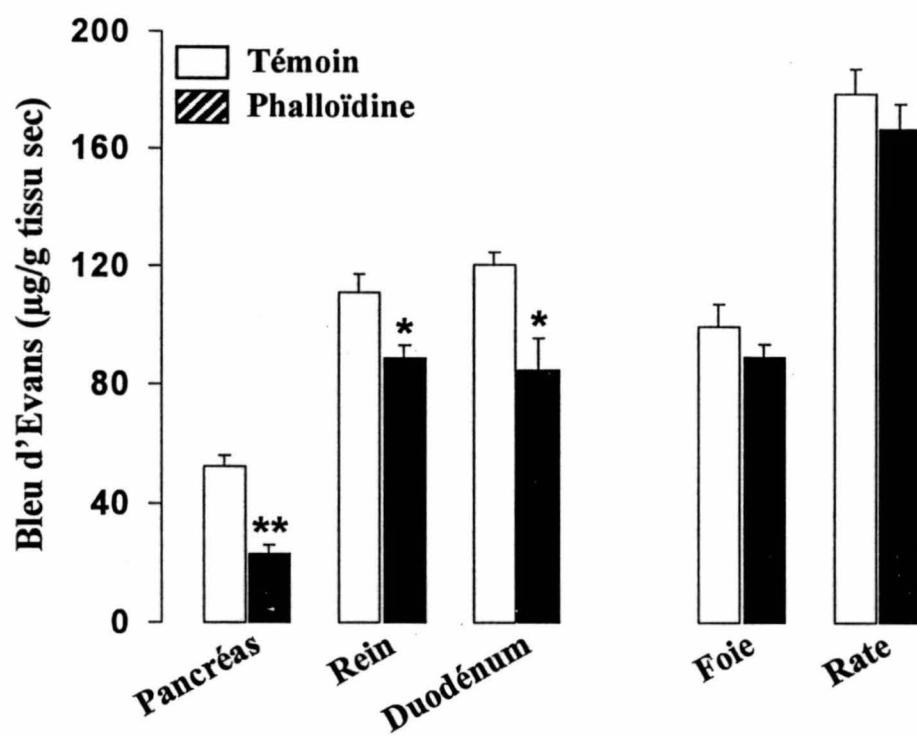


Figure 9. Effets de la phalloïdine sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la phalloïdine (0.1 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. *P<0.05 et **P<0.01 vs témoin. n=6.



empêche le transport vésiculaire, diminue le contenu en BE de deux tissus à endothélium de type fenêtré, le pancréas (-31%; $P<0.05$) et le duodénum (-28%; $P<0.05$), et d'un tissu à endothélium de type continu, le muscle (-67%; $P<0.01$; figure 8). En revanche, un produit qui inhibe la dépolymérisation des microfilaments, la phalloïdine, cible tous les tissus à endothélium fenêtré (figure 9). Ainsi, la perméabilité capillaire est réduite dans le pancréas (-56%; $P<0.01$), le rein (-20%; $P<0.05$), le duodénum (-29%; $P<0.05$), et, de manière inattendue, dans un tissu à endothélium de type continu, le muscle squelettique (-78%, $P<0.01$).

Dans une autre série d'expériences, le rôle des microtubules et des microfilaments dans l'augmentation de l'extravasation de BE induite par un agent inflammatoire est évalué (figures 10 et 11). Le PAF augmente la perméabilité capillaire significativement ($P<0.01$) dans le pancréas (704%), le duodénum (119%), la bronche externe (319%) et l'aorte abdominale (65%). L'oxide de phénylarsine ne modifie pas ces augmentations d'extravasation d'albumine, même dans les tissus où le produit seul avait entraîné une chute de la perméabilité capillaire basale (figure 10). Par contre, la phalloïdine inhibe partiellement (pancréas, duodénum, bronche externe) ou complètement (aorte abdominale) les effets du PAF (figure 11).

Par ailleurs, le rôle éventuel de certaines composantes de la matrice extracellulaire dans le maintien de la perméabilité capillaire de base a été étudié avec des produits agissant à différents niveaux (figures 12 à 14). La collagénase, qui dégrade le collagène, le constituant principal de la membrane basale et de l'espace interstitiel, augmente l'extravasation de BE dans plusieurs tissus munis d'endothélium de type fenêtré ou continu. Ainsi, la perméabilité capillaire est élevée significativement ($P<0.01$) dans le

Figure 10. Effets du PAF sur la perméabilité capillaire, avec ou sans traitement à l'oxide de phénylarsine. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec PAF (1 µg/kg) ou PAF + oxide de phénylarsine (0.1 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. **P<0.01 vs témoin. §§P<0.01 vs PAF seul. n=5-6.

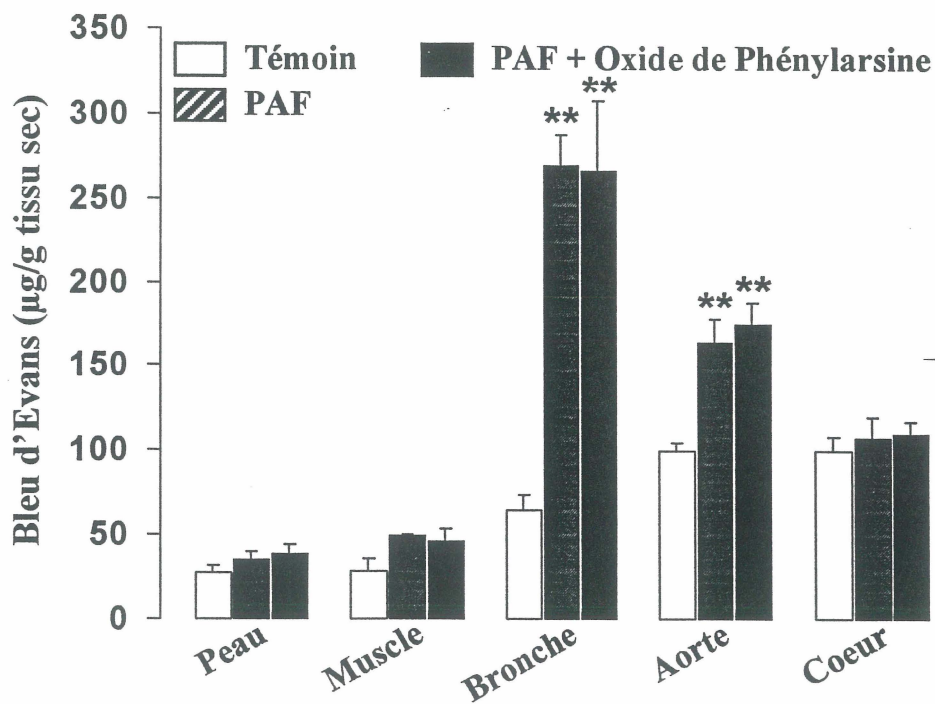
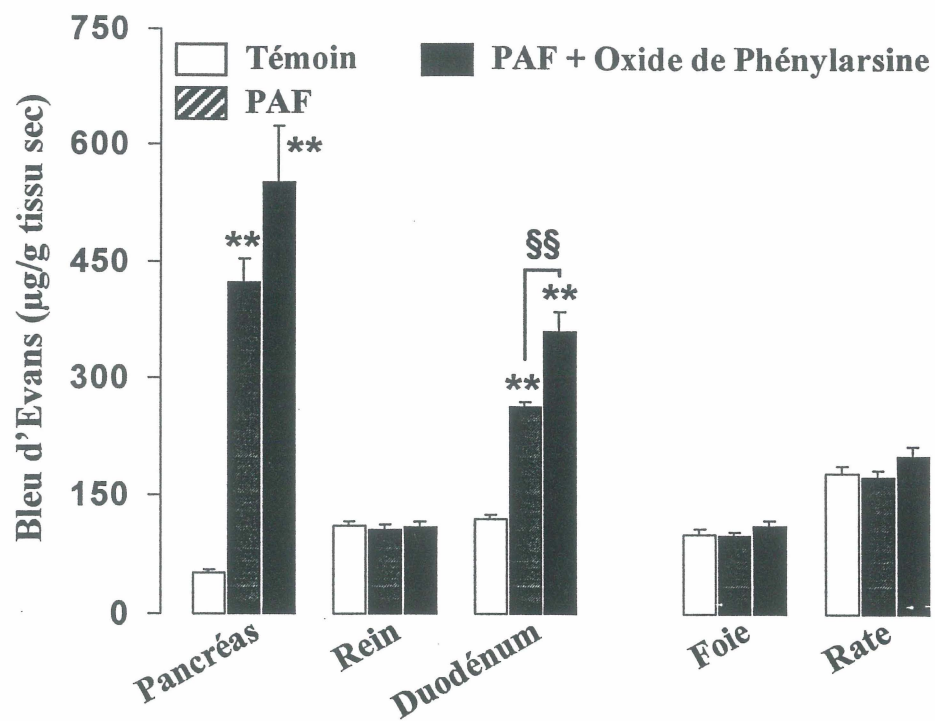


Figure 11. Effets du PAF sur la perméabilité capillaire, avec ou sans traitement à la phalloïdine. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec PAF (1.0 µg/kg) ou PAF + phalloïdine (0.1 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. *P<0.05 et **P<0.01 vs témoin. §P<0.05 et §§P<0.01 vs PAF seul. n=5-6.

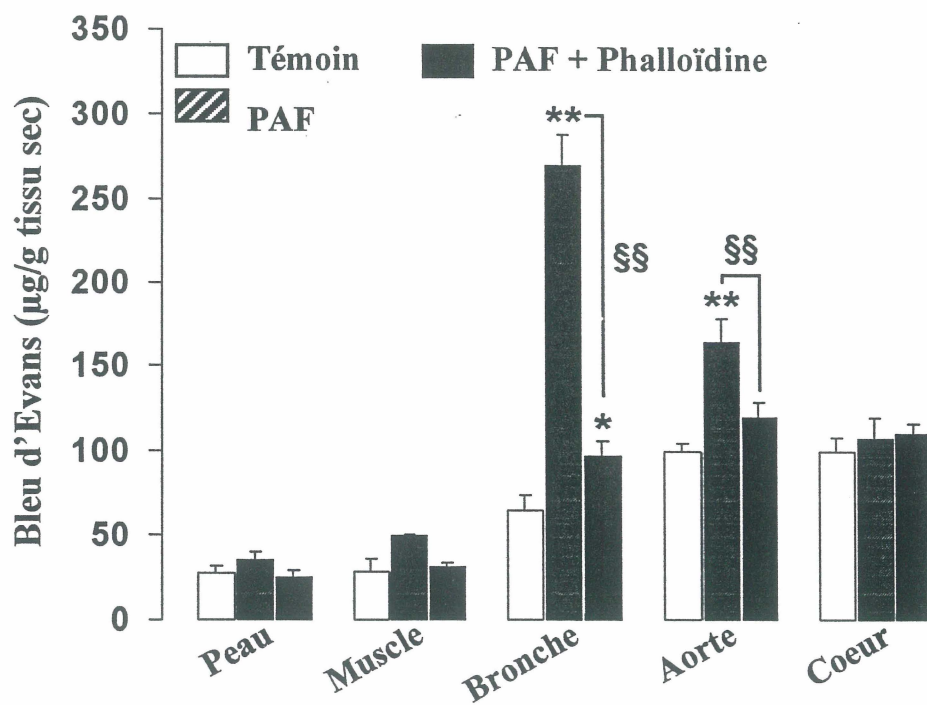
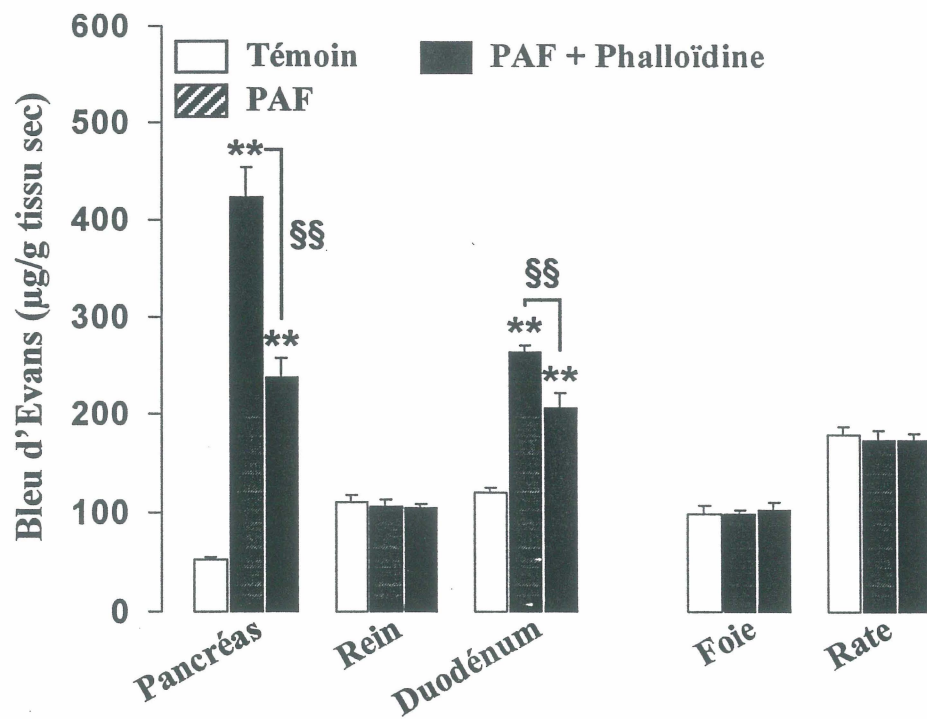


Figure 12. Effets de la collagénase sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec collagénase (1.0 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.

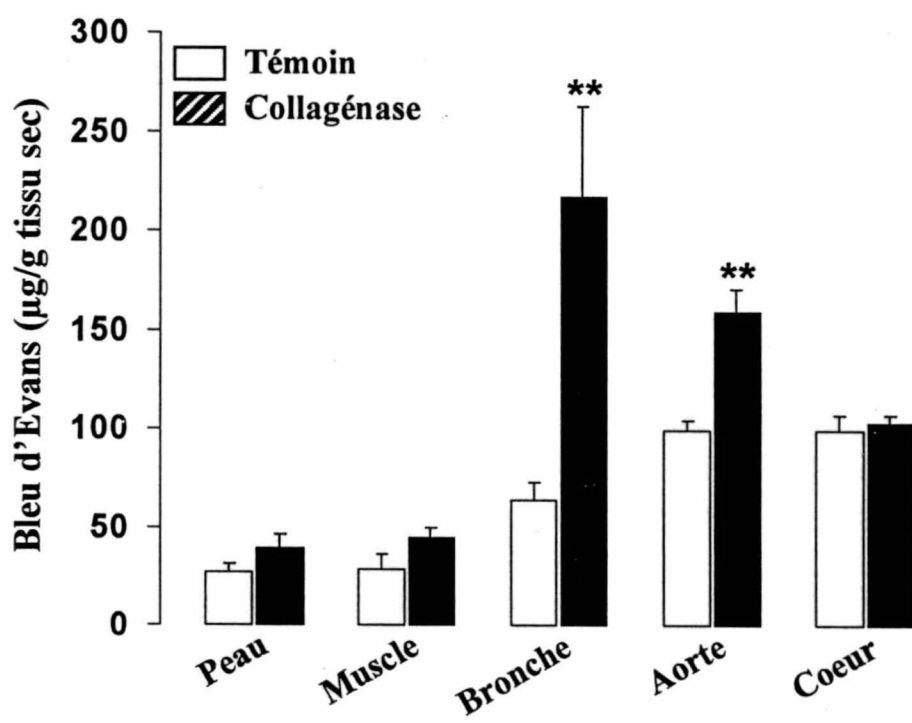
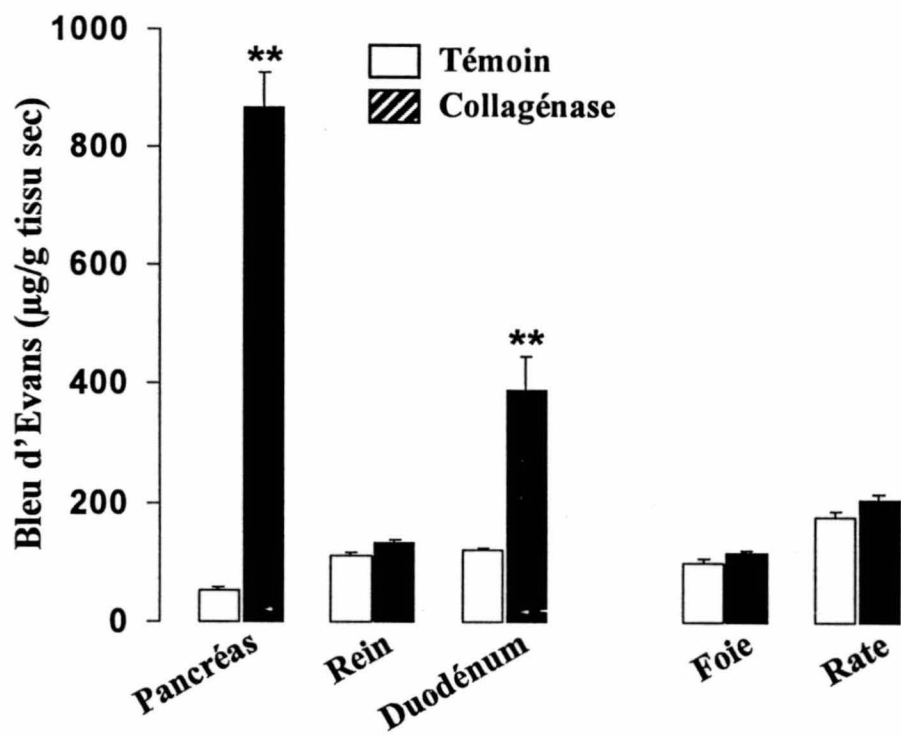


Figure 13. Effets de l'hyaluronidase sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'hyaluronidase (1.0 mg/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.

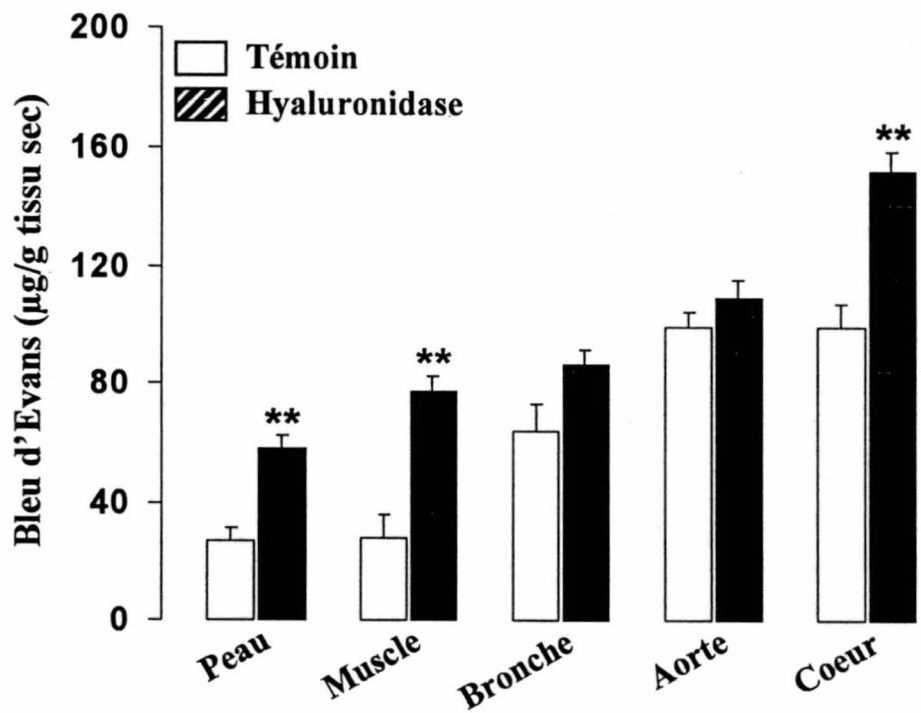
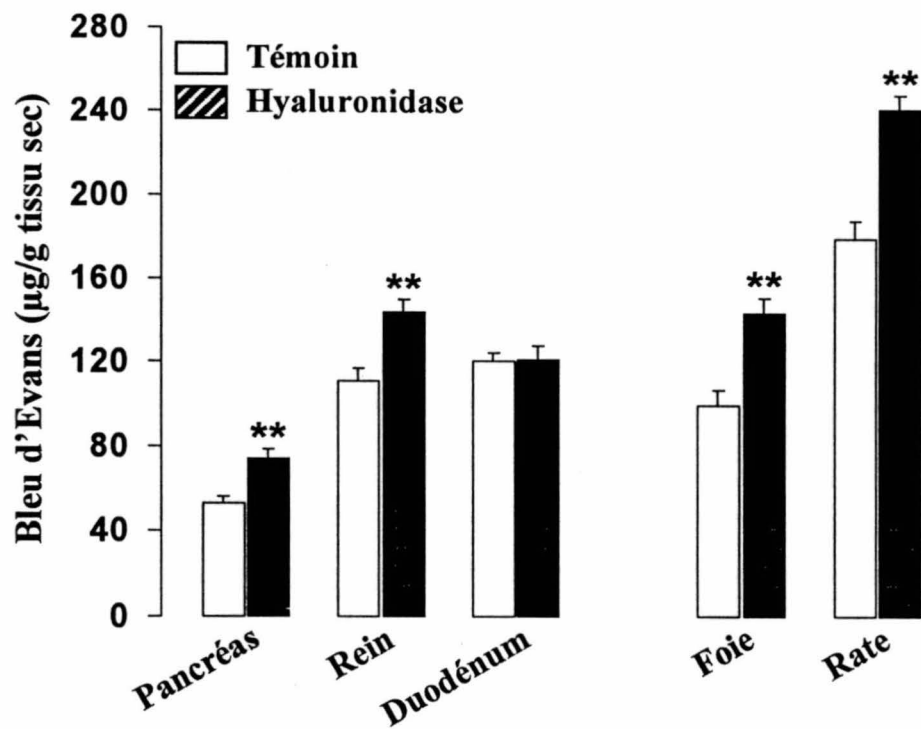
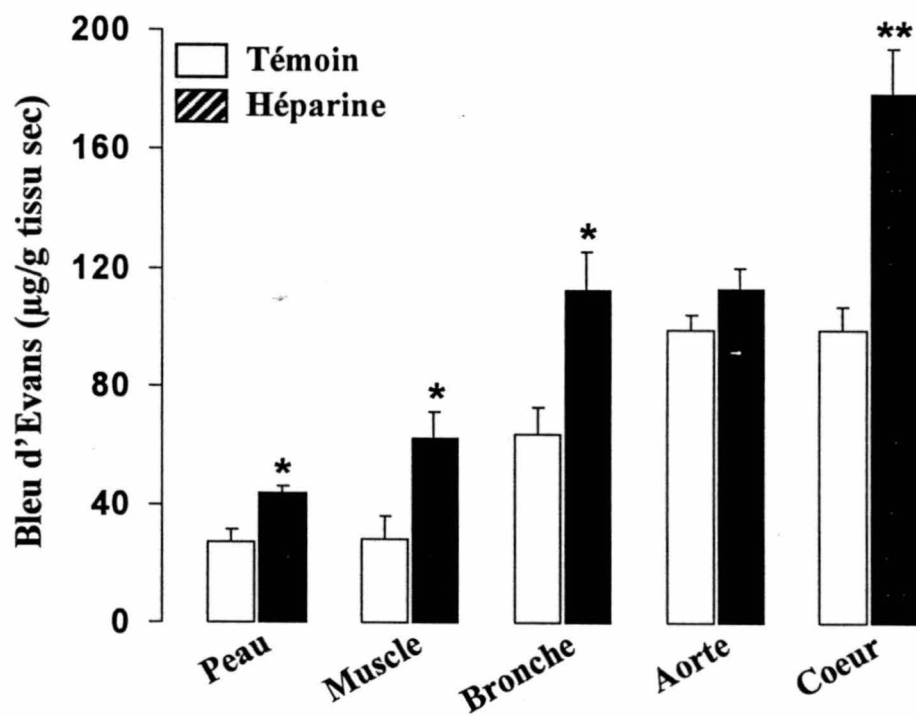
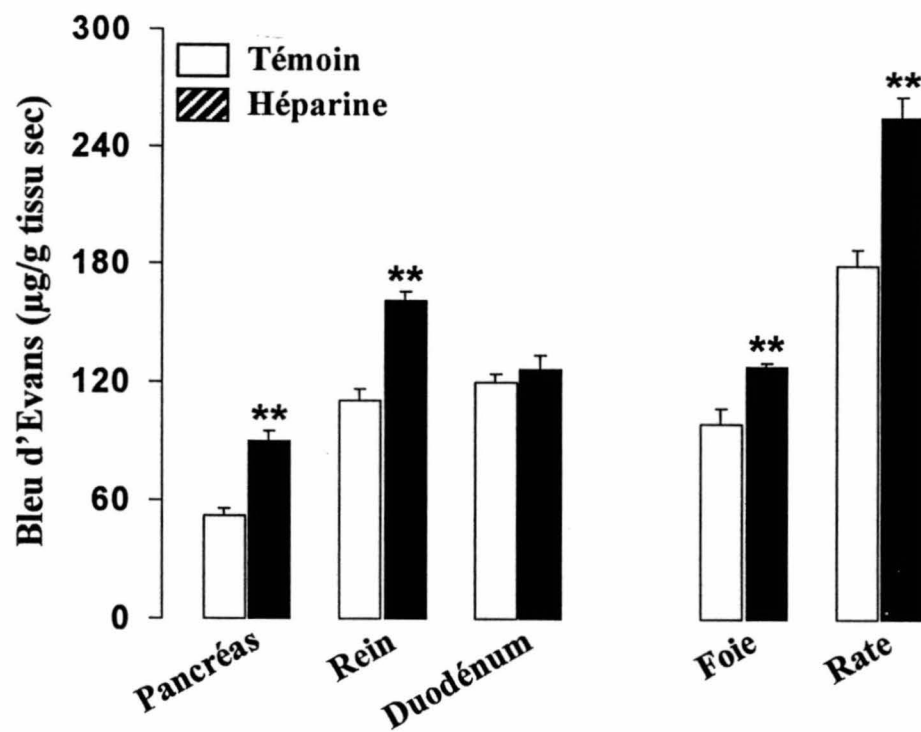


Figure 14. Effets de l'héparine sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'héparine (100 U/kg). Choix des tissus tel qu'indiqué dans la Figure 6. * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n = 5-6$.



pancréas, le duodénum, la bronche externe et l'aorte abdominale, de 1553, 231, 238 et 60%, respectivement (figure 12). L'hyaluronidase modifie également la perméabilité capillaire de plusieurs tissus, mais elle agit généralement sur des tissus avec endothélium fenêtré ou continu qui ne sont pas touchés par la collagénase, en plus des tissus avec endothélium discontinu. Ce produit augmente donc l'extravasation de BE significativement ($P<0,01$) dans le pancréas (41%), le rein (30%), le foie (51%), la rate (34%), la peau (112%), le muscle squelettique (172%) et le coeur (53%; figure 13). De même, l'héparine, qui comme l'hyaluronidase dégrade une protéine située essentiellement dans l'interstitium, induit une augmentation de l'extravasation de BE dans le pancréas (72%; $P<0.01$), le rein (45%; $P<0.01$), le foie (35%; $P<0.01$), la rate (43%; $P<0.01$), la peau (60%; $P<0.05$), le muscle squelettique (120%; $P<0.05$), la bronche externe (76%; $P<0.05$) et le coeur (79%; $P<0.01$; figure 14).

2. DISCUSSION

2.1. Extravasation physiologique de l'albumine

Plusieurs méthodes *in vitro* et *in vivo* ont été élaborées afin d'explorer différents aspects de la perméabilité capillaire. Par exemple, l'isolation de cellules endothéliales, provenant généralement de gros vaisseaux tel que l'aorte, a permis d'en étudier la morphologie lorsqu'elles sont exposées à un agent perméabilisant. Il est également possible d'évaluer l'étanchéité d'une monocouche endothéliale soumise à divers traitements, en quantifiant le passage de marqueurs de différentes tailles ou le potentiel électrique à travers la monocouche. À plus grande échelle, la perméabilité d'un organe isolé, n'ayant qu'une entrée artérielle et une sortie veineuse, est déterminée en comparant la concentration veineuse de deux produits injectés simultanément, l'un qui traverse la barrière capillaire (l'albumine marquée, par exemple) et l'autre non (globules rouges marqués)(PAASKE et SEJRSEN, 1989).

In vivo, certaines techniques peu invasives servent à recueillir des données de la perméabilité chez l'homme, notamment l'évaluation de l'extravasation d'un indicateur injecté par bolus en traçant une courbe de sa concentration sanguine en fonction du temps (Bent-Hansen, 1989). Chez l'animal, différents systèmes sont utilisés pour la visualisation de la perméabilité grâce à des marqueurs fluorescents ou opaques: la poche jugale, les mésentères, les capillaires de la conjonctive, ou la vascularisation cutanée. D'ailleurs, le modèle le plus utilisé *in vivo* est le crémaster de rat observé sous microscope après

transillumination (Barbier et al., 1994). Autrement, il est possible d'évaluer l'accumulation d'albumine dans l'espace interstitiel des tissus en y plaçant des mèches absorbantes à partir desquelles les protéines peuvent ensuite être quantifiées. (PAASKE et SEJRSEN, 1989), ou même d'analyser le contenu lymphatique en protéines. La technique du bleu d'Evans injecté a l'avantage de rendre possible l'évaluation de la perméabilité capillaire de plusieurs tissus séparément, chez des animaux non-anesthésiés, et de comparer ainsi l'impact des traitements dans différents territoires de perfusion sanguine. En plus, la manipulation des animaux est relativement rapide et peu compliquée, et le colorant ne présente pas de risques majeurs aux utilisateurs. L'intérêt de ce modèle est l'évaluation de l'extravasation de protéines dans les conditions réelles - capillaires, matrice extracellulaire, pression...- impliquées dans les échanges entre les vaisseaux et l'interstitium. Malheureusement, il y a plusieurs facteurs susceptibles d'influencer la perméabilité capillaire dont il est difficile de tenir compte, tels que le débit sanguin régional, le recrutement vasculaire, et l'activation hormonale. Ainsi, COUSINEAU *et al.* (1995) démontrent que l'élévation du débit coronaire augmente le produit perméabilité capillaire - air de surface. Dans le poumon, une augmentation du débit n'altère pas la perméabilité vasculaire aux protéines, alors que le coefficient de filtration est rehaussé en proportion au flux, ainsi que la perméabilité à l'eau. Les auteurs concluent que ces augmentations sont le résultat d'une élévation de la pression microvasculaire et de l'air de surface (EHRHART *et al.*, 1994). En revanche, la perméabilité de veinules à l'albumine serait modulée au moins en partie par le débit via la production de NO (YUAN *et al.*, 1992).

La perméabilité capillaire de différents réseaux vasculaires est donc évaluée à l'aide du bleu d'Evans. Il a été démontré que la liaison de ce marqueur à l'albumine est complète

(>95%; RAWSON, 1943) et très peu dissociable (PATTERSON *et al.*, 1992), et qu'à la dose utilisée il est capté de façon préférentielle par aucun tissu (LEVEEN et FISHMAN, 1947). De plus, il y a corrélation entre l'extravasation du BE et de l'['¹²⁵I]-albumine (UDAKA *et al.*, 1970, PATTERSON *et al.*, 1992). L'équilibration vasculaire et interstitielle du marqueur en dix minutes (BENT-HANSEN, 1989), ainsi que son extraction entière par la formamide (UDAKA *et al.*, 1970) ont également été établis. Une séquestration vasculaire du BE suite à l'exsanguination des animaux ne devrait pas contribuer de façon importante à l'évaluation du contenu tissulaire de ce marqueur, qui se retrouve dans l'interstitium, puisque le volume vasculaire dans les organes les plus vascularisés représente moins de 10% du volume liquidien total (WIIG *et al.*, 1992), et qu'après exsanguination le contenu vasculaire en BE est négligeable (LORTIE *et al.*, 1994). Dans le parenchyme rénal, par exemple, l'organe le plus richement vascularisé de l'organisme, la quantité d'érythrocytes marqués du chrome radioactif mesurée après exsanguination sous anesthésie générale, est inférieure à 5% du contenu vasculaire total de l'organe (LORTIE *et al.*, 1994). De plus, une augmentation importante de la pression capillaire par divers produits est probablement à exclure puisque une élévation de la pression augmenterait les forces hydrostatiques Starling et entraînerait probablement un oedème local, alors qu'aucune altération des rapports poids humide/poids sec des tissus n'a été notée sous les différents traitements. Par exemple, EHRHART *et al.* (1994) ont attribué une augmentation de la perméabilité vasculaire à l'eau mais pas aux protéines à une élévation de la pression microvasculaire.

La première figure des résultats expérimentaux montre bien l'hétérogénéité de la perméabilité capillaire de base dans les différents réseaux microvasculaires. En effet, le

contenu en BE varie d'un facteur 8 entre la peau et la rate, les autres tissus ayant une perméabilité intermédiaire. Il est intéressant de noter que l'extravasation de BE n'est pas uniquement fonction du type de capillaires qui se retrouvent dans les tissus. Quoiqu'il est vrai que la peau et le muscle squelettique, deux tissus munis d'endothélium de type continu, ont les niveaux de perméabilité capillaire les plus bas, et que la rate, possédant de l'endothélium de type discontinu, est particulièrement perméable, ces distinctions sont moins claires pour les autres organes, mettant en jeu la contribution de la matrice extracellulaire comme barrière au passage de l'albumine. Une distribution hétérogène de l'albumine dans divers organes a également été démontrée chez différentes espèces (BENT-HANSEN, 1989). Néanmoins, le profil de la perméabilité capillaire de base, variant d'un organe à l'autre, pourrait témoigner des différentes capacités de vasodilatation de lits capillaires distincts (SAXENA et BOLT, 1986) et donc d'une séquestration plus ou moins importante de volume sanguin dans divers tissus.

Afin de vérifier la contribution potentielle du contenu vasculaire résiduel dans l'accumulation tissulaire de BE, la perméabilité capillaire est évaluée chez un second groupe de rats, dont la circulation périphérique a été rincée avec une solution Krebs. Cette étude confirme que le résidu d'albumine vasculaire est négligeable lorsque les rats sont exsanguinés, puisque le contenu en BE mesuré dans divers tissus dans le second groupe de rats diffère peu du premier groupe. En effet, ce n'est que dans le coeur que le contenu en BE est diminué de façon significative, alors que cet organe est normalement perfusé lors du rinçage des poumons.

2.2. Cytosquelette et matrice extracellulaire

Les rôles de différentes composantes du cytosquelette et de la matrice extracellulaire dans le maintien et la modification de la perméabilité capillaire *in vivo* ont été évalués. Pour ce faire, les effets de deux poisons du cytosquelette, agissant sur les microtubules (colchicine) ou les microfilaments (cytochalasine B), sont d'abord étudiés. La colchicine, qui empêche la polymérisation de la tubuline, augmente la perméabilité capillaire uniquement au niveau du pancréas et de la bronche. Il semble ainsi que les microtubules ne sont pas impliqués dans la régulation dynamique de la perméabilité capillaire dans les conditions expérimentales décrites. Par contre, l'absence d'effets dans la plupart des tissus serait peut-être due au fait que la polymérisation et la dépolymérisation de la tubuline sont des procédés relativement lents, quoique plus dynamiques que les équivalents au niveau des microfilaments (GOTTLIEB *et al.*, 1991). Ainsi, l'administration de la colchicine 10 minutes avant le sacrifice des rats pourrait ne pas être de durée suffisante pour montrer des modifications de l'extravasation des protéines. D'autre part, il est connu que l'injection intrapéritonéale de colchicine induit, via l'activation de la cyclo-oxygénase, une augmentation de PGE₂ dans la muqueuse intestinale et l'élévation de l'AMPc (RACHMILEWITZ et KARMELI, 1980). Ceci pourrait masquer un effet perméabilisant de la colchicine via l'interaction avec les microtubules, par un effet contraire au niveau des microfilaments. Par ailleurs, il a été démontré que la colchicine inhibe la formation de collagène par une monocouche de fibroblastes (MANSOUR *et al.*, 1988). Si cela se reproduit *in vivo*, une réduction du contenu en collagène de la matrice extracellulaire pourrait être impliquée en partie dans l'augmentation de l'extravasation de BE notée au

niveau du pancréas, d'autant plus que nous démontrons également que cet organe est particulièrement sensible à la collagénase.

La cytochalasine B, contrairement à la colchicine, augmente l'extravasation de BE dans la majorité des tissus. Ceci s'accorde bien avec des expériences démontrant que ce poison induit une contraction des câbles d'actine en 10 minutes et une réduction de l'élongation des filaments d'actine provoquant un arrondissement de cellules dérivées de fibroblastes de souris (YAHARA *et al.*, 1982). Par ailleurs, d'autres chercheurs ont également confirmé que la cytochalasine B accroît l'accumulation de polymorphonucléaires stimulés par l'histamine et le leukotriène B₄ (PATERSON *et al.*, 1989) et augmente la perméabilité des cellules endothéliales *in vitro* (ALEXANDER *et al.*, 1988), alors que la cytochalasine D augmente la perméabilité dans la circulation musculaire (COOPER, 1987). Il semble donc que l'organisation des filaments d'actine, *in vivo* comme *in vitro*, soit critique pour le maintien de la barrière vasculaire, indépendamment du type d'endothélium présent dans les tissus. De plus, l'efficacité de la cytochalasine B, administrée en aigu, témoigne du caractère dynamique des filaments d'actine dont la polymérisation et la dépolymérisation semblent se faire en moins de dix minutes.

Dans une autre série d'expériences, deux autres poisons du cytosquelette favorisant plutôt l'étanchéité de la barrière endothéliale ont été utilisés. L'oxide de phénylarsine, qui empêche le transfert vésiculaire des macromolécules, diminue l'extravasation du BE dans le muscle squelettique, le pancréas et le duodénum. Ce mode de transport est donc important pour le passage de l'albumine dans certains tissus ayant un endothélium continu ou fenêtré. En effet, dans des réseaux microvasculaires continus, le transport de l'albumine

semble dépendre, du moins en partie, d'une sialoglycoprotéine de 60 kDa (gp60) exprimée spécifiquement à la surface des cellules endothéliales (SCHNITZER, 1992). REED *et al.* (1989) ont démontré que l'occupation de cette protéine par l'agglutinine RCA réduisait de façon importante le passage transendothélial de l'albumine, ce qui confirme les résultats obtenus dans le muscle. Par contre, le transport vésiculaire ne semble pas jouer un rôle important dans l'échange d'albumine entre les compartiments vasculaire et interstitiel dans des tissus ayant des capillaires discontinus.

La phalloïdine, qui induit la polymérisation d'actine (SERPINSKAYA *et al.*, 1990) et augmente la surface et le périmètre des cellules endothéliales (ALEXANDER *et al.*, 1988), réduit l'extravasation de BE dans quatre tissus continus et fenêtrés. Ces résultats corroborent des expériences *in vitro* indiquant que la phalloïdine augmente l'exclusion de l'albumine par des cellules endothéliales sur microbilles (ALEXANDER *et al.*, 1988), alors que d'autres ont démontré que ce produit ne change pas la perméabilité capillaire de base à l'albumine chez l'anguille (RASIO *et al.*, 1989). Il est intéressant de noter que la phalloïdine diminue l'extravasation de BE dans tous les tissus avec endothélium de type fenêtré, qui étaient également touchés par la cytochalasine B; ils représentent probablement des réseaux capillaires où il y a un revêtement rapide des filaments d'actine, qui leur confère une sensibilité accrue aux agents favorisant la polymérisation ou la dépolymérisation de ces microfilaments. Par ailleurs, la perméabilité capillaire des tissus à endothélium discontinu ne semble pas être affectée par le traitement avec la phalloïdine.

Afin de déterminer le rôle de différents éléments du cytosquelette dans l'augmentation de la perméabilité capillaire induite par un agent inflammatoire, l'oxide de phénylarsine ou la phalloïdine ont été administrés avec le PAF. Ce dernier, injecté seul, provoque

l'extravasation du BE au niveau de plusieurs tissus, notamment dans les bronches, le pancréas, le duodénum et l'aorte. Les résultats obtenus indiquent que le transfert d'albumine dans l'inflammation ne se fait vraisemblablement pas via un système vésiculaire, puisque l'oxide de phénylarsine n'atténue pas de façon significative l'augmentation de la perméabilité capillaire induite par le PAF. Par contre, la réorganisation des microfilaments est impliquée. Effectivement, en empêchant la dépolymérisation d'actine, la phalloïdine réduit l'extravasation de BE induite par le PAF. D'autres chercheurs ont rapporté une réduction par la phalloïdine des effets perméabilisants de divers agonistes tels que l'histamine, la bradykinine, le TxA₂ mimétique (ALEXANDER *et al.*, 1988), la thrombine (PHILLIPS *et al.*, 1989), l'endothéline-3 (KUROSE *et al.*, 1993), et les cytochalasines B (ALEXANDER *et al.*, 1988) et D (COOPER, 1987), dans des réseaux de microcirculation spécifiques ou au niveau dans des monocouches de cellules endothéliales. La phalloïdine a également un effet protecteur lors de la reperfusion post-ischémie (KORTHUIS *et al.*, 1991; RASIO *et al.*, 1989). Néanmoins, la phalloïdine ne maintient pas complètement la perméabilité capillaire de base en présence du PAF. Ceci s'expliquerait par l'activation de l'interaction actine-myosine en présence du PAF et la contraction subséquente du cytosquelette par cette voie, qui ne dépend pas de la dépolymérisation et repolymérisation des filaments d'actine, en plus de la réorganisation de la bande périphérique d'actine en fibres de stress.

Alors que plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'importance de différents éléments du cytosquelette dans les modification de la perméabilité endothéliale, la contribution éventuelle de la matrice extracellulaire a été grandement négligée. Pourtant, il est connu que la configuration de la matrice extracellulaire a un effet dynamique sur les protéines du

cytosquelette (EZZELL *et al.*, 1993), que la composition et la configuration de la matrice influencent la forme et la surface des cellules endothéliales par le biais d'intégrines qui relient protéines extracellulaires et cytosquelette (MADRI *et al.*, 1992), et que les constituants de la matrice extracellulaire peuvent contribuer à la sélectivité de la barrière plasmatiche (CARTWRIGHT et JAENKE, 1988). Par exemple, des intégrines se liant à la laminine, le collagène de type IV et la fibronectine sont retrouvées aux jonctions intercellulaires *in vivo* et *in vitro*. Des anticorps dirigés contre ces intégrines augmentent la perméabilité endothéliale aux macromolécules *in vitro* (LAMPUGNANI *et al.*, 1991). D'autre part, les polycations altèrent également le transport plasma-lymphe d'albumine via l'interaction avec les sites anioniques de la barrière vasculaire situés sur la membrane endothéliale ou la matrice interstitielle (TOYOFUKU *et al.*, 1989). De plus, certaines études rapportent une perte de constituants de la matrice extracellulaire dans des conditions pathophysiologiques où il y a augmentation de la perméabilité capillaire. Par exemple, l'héparan sulfate est diminué chez les rats néphrotiques ainsi que les animaux et les patients diabétiques (HEINTZ *et al.*, 1995). La plupart des recherches se sont concentrées sur la fibronectine, dont la déficience interstitielle est corrélée avec une élévation de la perméabilité globale (NIEHAUS *et al.*, 1980; ROBERTS *et al.*, 1991), et dont l'ajout à une monocouche de cellules endothéliales en réduit la perméabilité (WHEATLEY *et al.*, 1993). Par contre, la contribution des autres constituants de la matrice extracellulaire au maintien de la perméabilité capillaire, particulièrement *in vivo*, demeure peu connue.

Dans un premier temps, les effets de la dégradation du collagène, un constituant majeur de la membrane basale et de l'espace interstitiel (ROBERT et BIREMBAUT,

1989), sur la perméabilité capillaire ont été évalués. La collagénase induit l'extravasation du BE au niveau du pancréas, du duodénum, de l'aorte et de la bronche. Il semble donc que la membrane basale et l'espace interstitiel de ces organes jouent un rôle important dans le maintien de la sélectivité de la barrière capillaire, ce qui pourrait expliquer la perméabilité aux protéines comparable des réseaux microvasculaires continus et fenêtrés, malgré la présence de pores dans ces derniers (RENKIN, 1992). De fait, la matrice extracellulaire, particulièrement le collagène de type IV, la fibronectine et la laminine, réduit la conductivité hydraulique des vaisseaux (QIAO *et al.*, 1993). Le phénomène d'exclusion de l'albumine du compartiment interstitiel par le collagène a également été démontré (WIIG *et al.*, 1992). De façon similaire, d'autres auteurs ont observé une hausse de l'extravasation du FITC-dextrans et de la peroxydase de raifort dans des tissus à endothélium de type continu, dans le cerveau, l'aorte et le muscle cardiaque, suite à l'injection de collagénase. Par contre, dans ces tissus, l'élévation de la perméabilité était attribuée à une augmentation du nombre de vésicules et non à un effet sur la matrice extracellulaire (ROBERT *et al.*, 1990). D'autre part, il a été postulé que les effets perméabilisants du TNF seraient dus en partie à l'induction, par ce peptide, de l'expression d'une métalloprotéase gélatinolytique de 96 kDa, qui cleave le collagène de type IV et V et les gélatines de collagène de type I et III en plus de la fibronectine et de la laminine (PARTRIDGE *et al.*, 1993). Un décollement des cellules endothéliales en présence de collagénase pourrait également être à l'origine de l'augmentation de l'extravasation d'albumine observée, quoique la sélectivité du produit pour certains tissus indique malgré tout une concentration différente du collagène dans divers réseaux microcirculatoires ou

une contribution relativement plus ou moins importante au maintien de l'étanchéité de la paroi vasculaire.

Un traitement, à l'hyaluronidase, réduit l'accumulation d'acide hyaluronique par la dégradation de ce dernier (MAST *et al.*, 1992). L'acide hyaluronique, un des constituants majeurs de la matrice extracellulaire, surtout au plan qualitatif, forme un treillis polyanionique interstitiel qui pourrait, en principe, réduire la passage de l'albumine par un effet de répulsion des charges, en plus de participer à l'exclusion de l'albumine (WIIG *et al.*, 1992). En parallèle, l'héparine réduit de façon dose-dépendante l'héparan sulfate, protéoglycan situé à la fois dans la membrane basale et la matrice interstitielle, sans affecter le contenu de fibronectine (GROGGER *et al.*, 1988; GURETZKI *et al.*, 1994). Les résultats démontrent que l'hyaluronidase et l'héparine induisent dans les mêmes tissus, avec endothélium de type continu, fenêtré ou discontinu, une augmentation de la perméabilité capillaire. Ceci confirme des études précédentes démontrant une diminution de la sélectivité de la membrane basale glomérulaire suite à la perte de protéoglycans chargés négativement (CARTWRIGHT et JAENKE, 1988), et une élévation de la perméabilité endothéliale associée à la réduction d'héparan sulfate (GROGGER *et al.*, 1988; GURETZKI *et al.*, 1994).

Les augmentations de la perméabilité capillaire induites par ces divers poisons de la matrice extracellulaire pourraient donc être dues à la réduction de la charge négative interstitielle, ou même à une augmentation de l'espace interstitiel disponible pour l'albumine. En contrepartie, la hausse de l'extravasation de l'albumine induite par des agonistes inflammatoires pourrait être due, du moins en partie, à une altération du cytosquelette des cellules endothéliales par interaction de ce dernier avec la matrice

extracellulaire. L'hétérogénéité des tissus touchés par la collagénase ou l'hyaluronidase élimine la possibilité d'un effet non spécifique de ces enzymes sur la matrice extracellulaire en général; seul le pancréas est sensible à la fois à la collagénase, à l'hyaluronidase et à l'héparine. En ce qui a trait au maintien de la barrière à l'extravasation plasmatique, l'héparane sulfate est probablement plus importante au niveau de l'interstitium que de la membrane basale, puisque l'héparine et l'hyaluronidase touchent les mêmes tissus, qui diffèrent en grande partie de ceux sensibles à la collagénase.

En résumé, les éléments du cytosquelette et de la matrice extracellulaire qui déterminent la perméabilité de base des tissus et leur réponse à un agoniste inflammatoire diffèrent d'un organe à l'autre. En général, le passage transendothélial basal d'albumine est assuré par un transport vésiculaire, alors qu'en situation inflammatoire, et peut-être dans d'autres conditions pathophysiologiques, la disjonction des cellules endothéliales est impliquée. Ceci confirme une étude démontrant qu'après l'injection du peroxydase de raifort, ce produit se retrouve dans les vésicules plasmalemmales mais pas entre ou sous les cellules endothéliales chez des rats témoins ou traités avec isoprotérénol, alors qu'il se retrouve dans les jonctions intercellulaires, les vésicules, et un peu sous les cellules endothéliales chez des rats ayant été traités à la norépinéphrine (HÜTTNER *et al.*, 1973). De plus, dans la plupart des tissus, surtout ceux avec endothélium de type continu ou discontinu, la barrière est assurée principalement par les cellules endothéliales, maintenues en forme par les microfilaments d'actine. Par contre, les tissus pourvus de capillaires fenêtrés dépendent de façon plus importante sur le collagène, retrouvé principalement dans la membrane basale, pour l'efficacité de leur sélectivité.

SECTION II - ANTIHYPERTENSEURS, HYPERTENSION ET PERMÉABILITÉ CAPILLAIRE

1. RESULTATS

1.1. Diurétiques - administration aiguë

La perméabilité capillaire de rats normotendus est évaluée suite à l'administration aiguë de divers diurétiques utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle. Afin d'évaluer la contribution éventuelle des métabolites de la cyclo-oxygénase dans les modifications de perméabilité observées, certains rats sont prétraités avec indométacine avant l'administration des diurétiques. L'extravasation de BE est mesurée dans des tissus impliqués dans le contrôle du bilan externe (rein, duodénum) et interne de l'eau (tissu réservoir: muscle squelettique), ainsi que des tissus thoraciques (bronche, coeur), splanchniques (pancréas, foie), enfin de l'aorte, une artère de conductance. Les résultats, présentés sur les figures 15 à 17, mettent en comparaison la teneur en BE des tissus provenant de rats non traités et de rats traités avec un agent diurétique avec ou sans préadministration indométacine. L'injection de l'indométacine seule ne modifie pas la perméabilité capillaire des tissus (résultats non montrés). La pression artérielle, mesurée à l'aide d'une manchette placée autour de la queue, n'a été modifiée dans aucun cas pendant

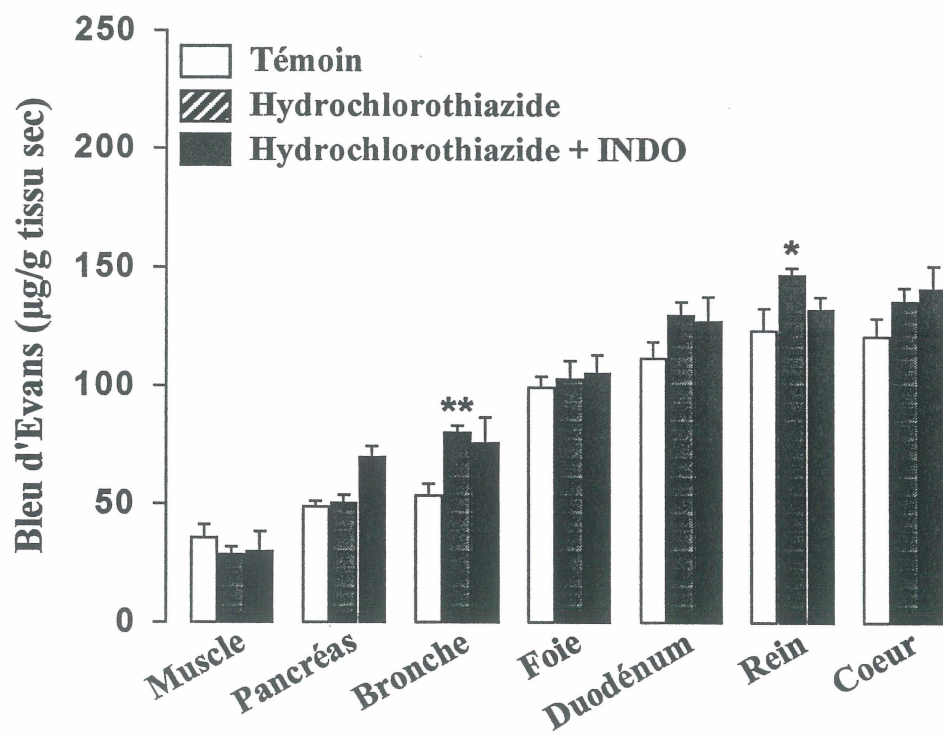
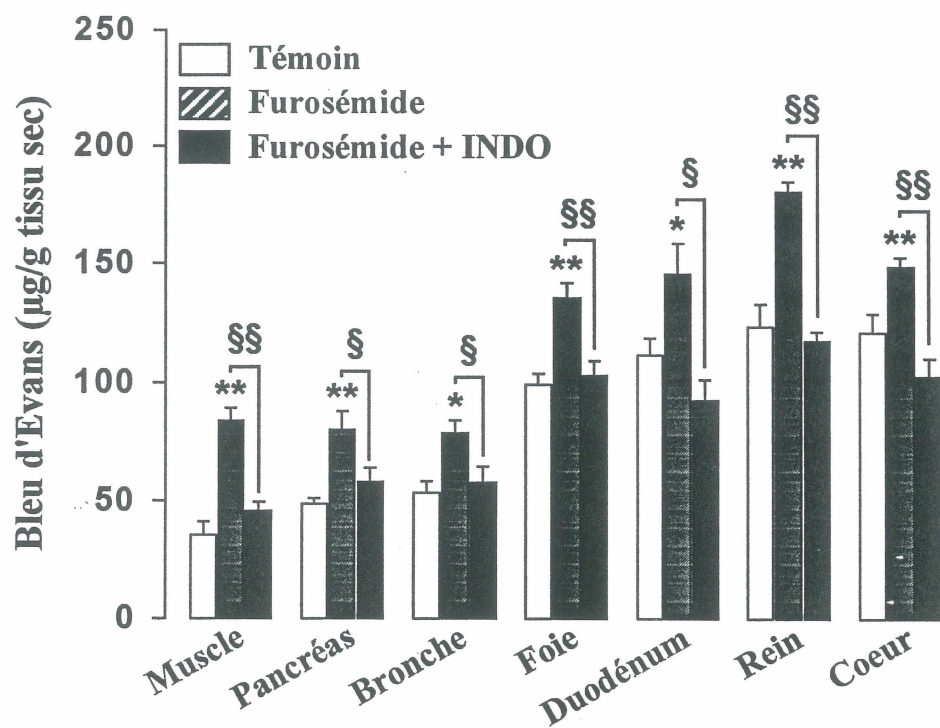
10 minutes suivant l'injection intraveineuse de l'un ou l'autre des diurétiques choisis (Tableau I).

Le plus puissant des diurétiques, le furosémide, augmente l'extravasation de BE dans presque tous les tissus. En effet, ce produit majore le contenu en BE du muscle squelettique, du pancréas, de la bronche, du foie, du duodénum, du coeur et du rein, de 135% ($P<0.01$), 64% ($P<0.01$), 47% ($P<0.05$), 36% ($P<0.01$), 30% ($P<0.05$), 23% ($P<0.01$) et 46% ($P<0.01$) respectivement. Toutefois, le prétraitement avec indométacine inhibe dans tous les tissus l'augmentation de la perméabilité capillaire induite par le furosémide (figure 15). Il est intéressant de noter que l'élévation de la perméabilité capillaire dans différents tissus ne s'accompagne pas nécessairement d'un oedème tissulaire, mesuré par le rapport poids humide/poids sec des organes (résultats non montrés). Ceci est vrai pour tous les traitements, aigus ou chroniques. Un deuxième diurétique, l'hydrochlorothiazide, (0.5 mg/kg) induit également une élévation de l'extravasation de BE, notamment au niveau de la bronche (50%; $P<0.01$) et du rein (19%; $P<0.05$). La perméabilité capillaire de ces deux tissus n'est pas réduite significativement par l'indométacine, mais elle n'est plus élevée par rapport aux niveaux de base (figure 15). En revanche, l'amiloride réduit l'extravasation de BE dans le muscle squelettique et le coeur, de -44% ($P<0.05$) et -27% ($P<0.01$), respectivement, et ces effets sont bloqués par indométacine. De plus, l'indométacine rehausse la perméabilité capillaire de la bronche, qui n'était pourtant pas réduite de façon significative par l'amiloride (figure 16). De même, les diminutions de perméabilité capillaire observées suite à l'injection de cicléstanine dans le duodénum (-49%; $P<0.01$) et le coeur (-33%; $P<0.05$) sont abolies lorsque indométacine est administrée en prétraitement, ainsi que la diminution non

Tableau I. Effets d'une injection de chacun des cinq diurétiques antihypertenseurs (indapamide, cicléтанine, amiloride, hydrochlorothiazide ou furosémide) sur la pression artérielle mesurée (mmHg) avant (T) ou 1, 5 et 10 minutes après l'administration de l'agent diurétique. n=3-4.

	Indapamide	Ciclétanine	Amiloride	Thiazide	Furosémide
T	137 ± 5	124 ± 6	124 ± 8	117 ± 9	133 ± 6
1	140 ± 8	125 ± 5	120 ± 6	120 ± 7	127 ± 8
5	130 ± 6	118 ± 7	118 ± 6	115 ± 6	122 ± 7
10	123 ± 11	115 ± 7	118 ± 7	115 ± 6	119 ± 9

Figure 15. Effets aigus d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg) ou l'hydrochlorothiazide (0.5 mg/kg), avec ou sans prétraitement avec indométacine (INDO; 5.0 mg/kg). *P<0.05 et **P<0.01 vs témoin. §P<0.05 et §§P<0.01 vs agent diurétique seul. n=5-7.



significative au niveau du pancréas (figure 16). L'indapamide augmente également de façon significative ($P<0.01$) l'accumulation interstitielle de BE dans le rein (32%). La perméabilité capillaire est maintenue aux niveaux de base dans ce tissu si l'indométacine est administrée avant l'indapamide, mais dans ce cas, l'extravasation de BE est augmentée dans le pancréas (45%; $P<0.05$). Cette augmentation est significative par rapport au groupe témoin, mais elle ne diffère pas des valeurs obtenues dans ce tissu lors de l'injection d'indapamide seule (figure 17).

1.2. Furosémide - cinétique et mécanismes d'action

L'extravasation de BE est évaluée à différents temps suivant l'administration intraveineuse aiguë de furosémide. Les résultats, représentés sur les figures 18 et 19, démontrent que ce diurétique augmente la perméabilité capillaire de façon biphasique. En effet, cet agent induit une élévation de l'extravasation de BE en dix minutes dans la plupart des tissus, tel que décrit plus haut, phénomène qui culmine généralement après 20 minutes, et qui se maintient pendant 30 à 40 minutes. Ensuite, le contenu tissulaire en BE retourne aux valeurs de base, autour de 40 à 50 minutes, pour se rehausser de nouveau à 60 minutes.

Dans le rein, par exemple (figure 18), l'extravasation de BE est accrue 10, 20 et 30 minutes après l'administration de furosémide (augmentations de 44, 54 et 53% respectivement; $P<0.01$), puis elle retourne aux niveaux de base à 40 et 50 minutes. Ensuite, à 60 minutes, la perméabilité capillaire est de nouveau rehaussée, de 32% ($P<0.01$). De même, le contenu en BE du duodénum est brutalement augmenté 10 et 20

Figure 16. Effets aigus d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'amiloride (0.3 mg/kg) ou la ciclétanine (2.0 mg/kg), avec ou sans prétraitement avec indométacine (INDO; 5.0 mg/kg). *P<0.05 et **P<0.01 vs témoin. §P<0.05 et §§P<0.01 vs agent diurétique seul. n=5-6.

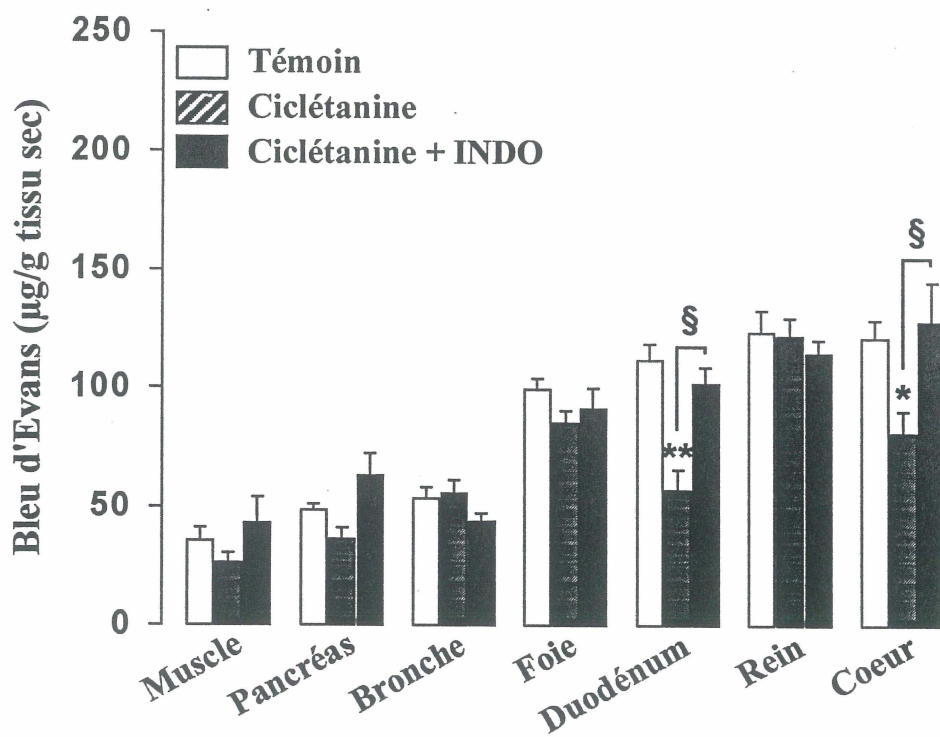
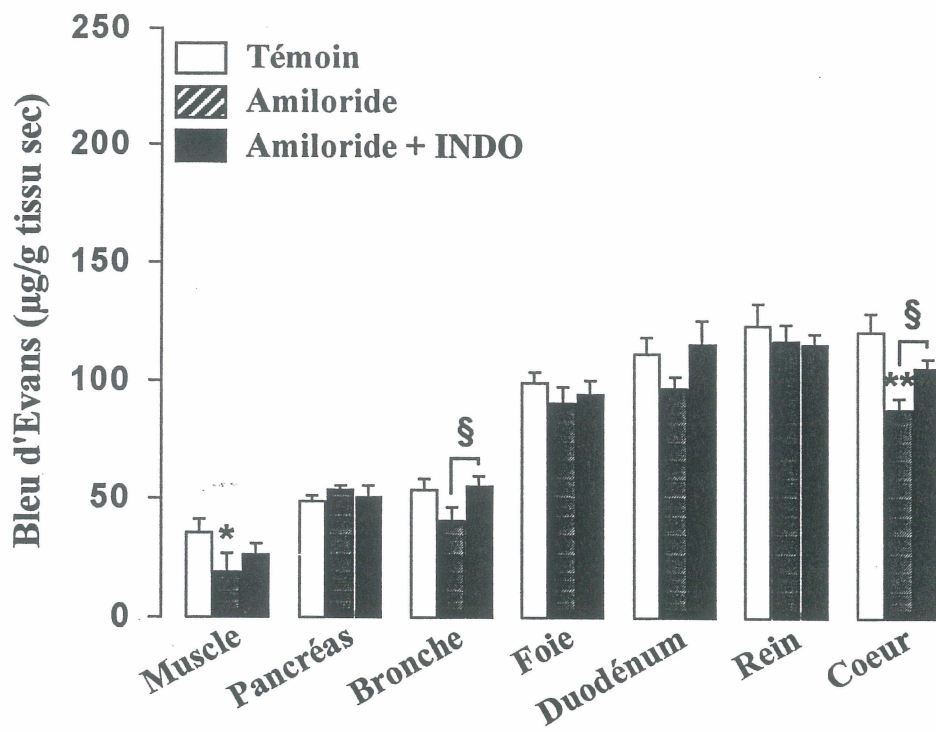
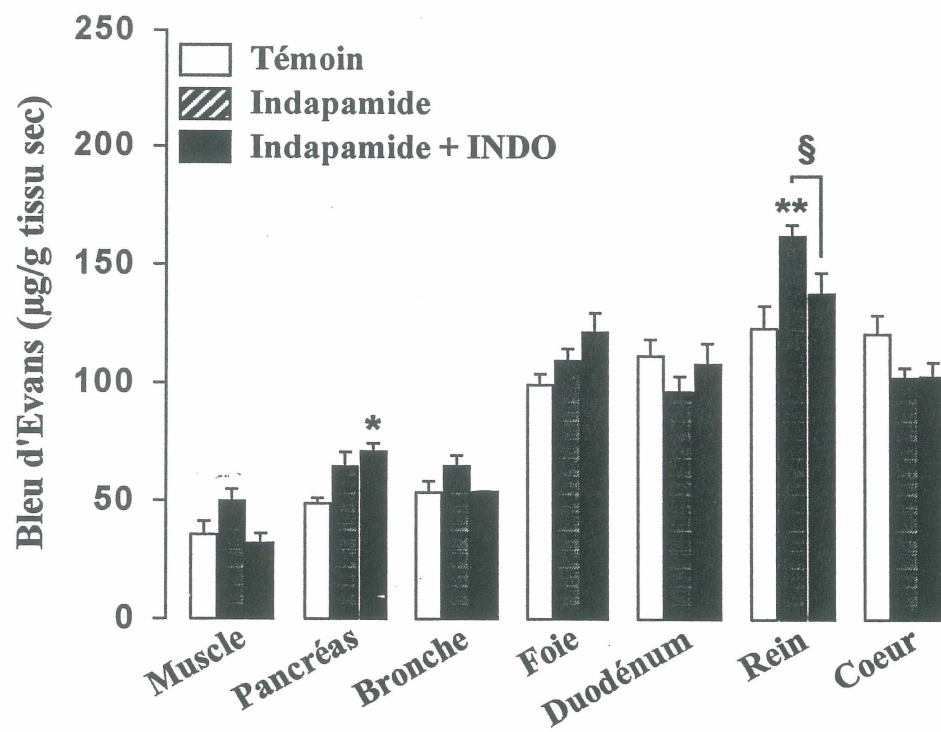


Figure 17. Effets aigus d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'indapamide (0.04 mg/kg), avec ou sans prétraitement avec indométacine (INDO; 5.0 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. § $P < 0.05$ vs agent diurétique seul. n=5-6.



minutes après l'injection de furosémide (48 et 52% respectivement; $P<0.05$), diminue par la suite pour s'accroître une nouvelle fois à 60 minutes (50%; $P<0.05$).

Par ailleurs, les modifications temporelles de l'extravasation de BE suite à l'injection de furosémide sont particulièrement marquées au niveau du muscle squelettique (figure 18). En effet, la perméabilité capillaire de ce tissu est augmentée à 10 minutes (131%; $P<0.01$), atteint un niveau maximum à 20 minutes (220%; $P<0.01$), et est maintenue jusqu'à 30 minutes (107%; $P<0.01$) avant de retourner aux valeurs de base. Une deuxième élévation est notée à 50 et 60 minutes (84 et 155% respectivement, $P<0.01$). Les modifications de l'extravasation de BE dans la peau ont le même profil (figure 18). La hausse initiale de la perméabilité capillaire, à 10 et 20 minutes (68 et 67% respectivement; $P<0.01$), est suivie d'un répit à 30 et 40 minutes, puis d'une nouvelle augmentation à 50 et 60 minutes (48 et 81 % respectivement; $P<0.01$).

Au niveau des tissus thoraciques, les effets du furosémide sont plus marqués dans la bronche que dans le coeur (figure 19). En effet, dans le premier tissu, l'élévation de la perméabilité capillaire est observée à 10 minutes (47%, $P<0.05$), s'accroît à 20 minutes (187%, $P<0.01$), et se maintient au-dessus des valeurs témoin à 30 et 40 minutes (68 et 46% respectivement, $P<0.05$). L'extravasation retourne aux niveaux de base à 50 minutes avant de s'accroître de nouveau à 60 minutes, de 55% ($P<0.01$).

La contribution éventuelle des métabolites de la cyclo-oxygénase dans les augmentations de la perméabilité capillaire induites à 10 et 60 minutes par le furosémide a été évaluée en administrant indométacine par voie intrapéritonéale 60 minutes avant l'injection du diurétique (figures 20 et 21). Alors que, lorsque injecté seule, indométacine ne modifie pas l'extravasation du BE dans les tissus, elle inhibe les élévations de la

Figure 18. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire du rein, du duodénum, du muscle squelettique et de la peau. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg), administré de 10 à 60 minutes avant le sacrifice des rats. * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n = 5-6$.

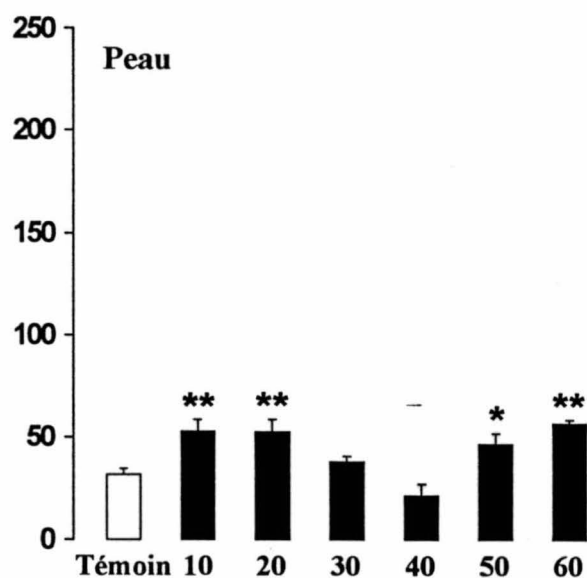
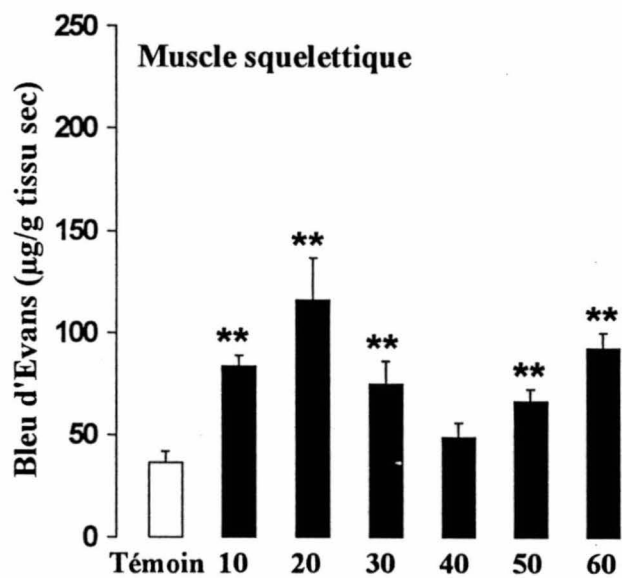
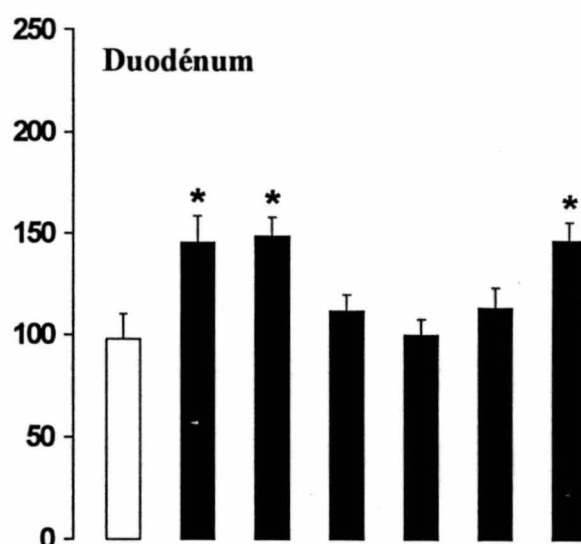
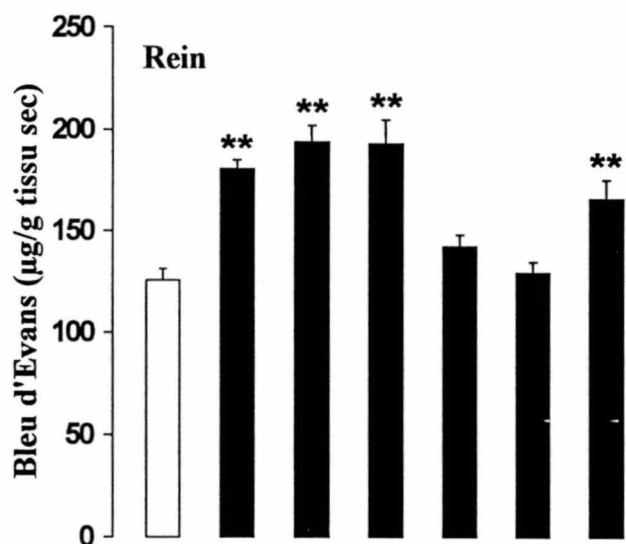
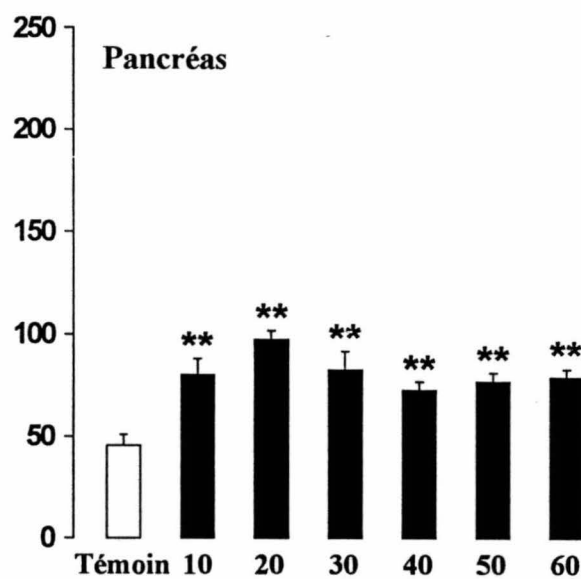
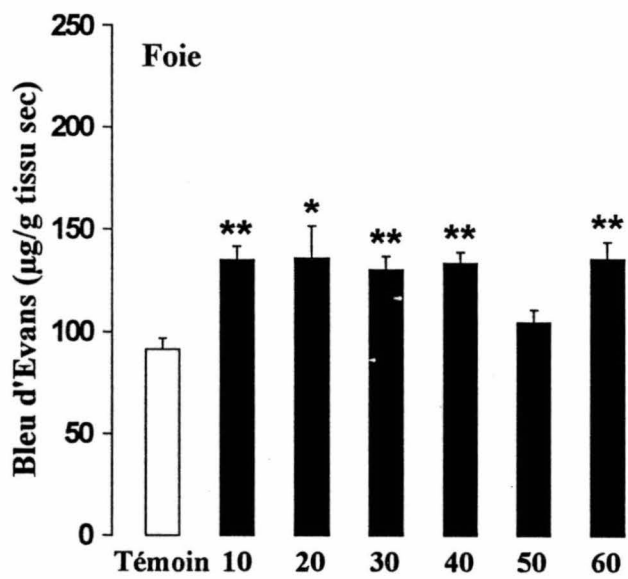
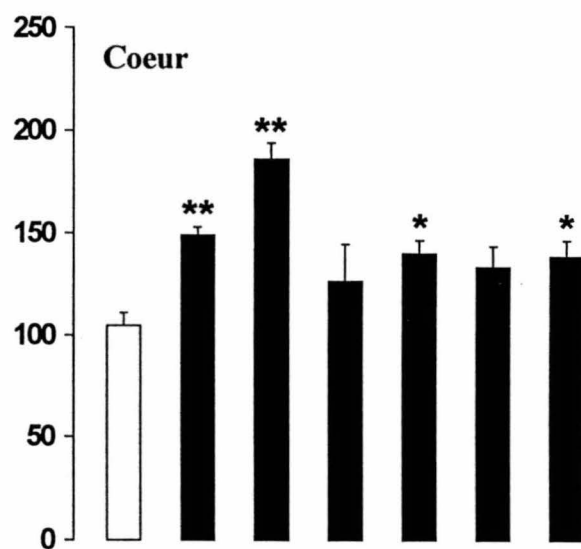
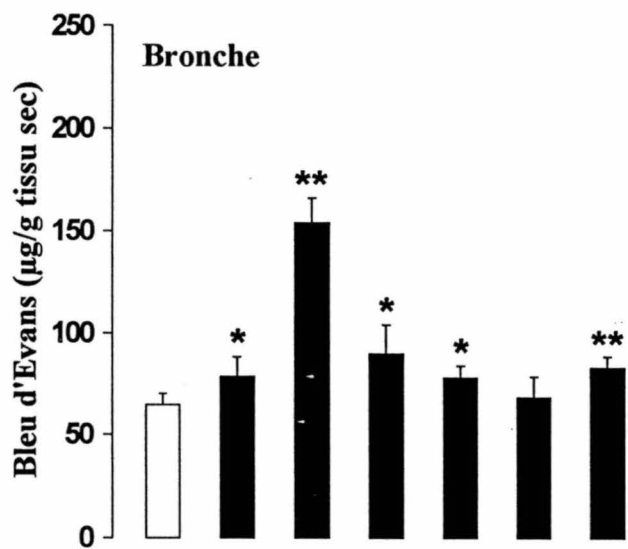


Figure 19. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire de la bronche, du coeur, du foie et du pancréas. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg), administré de 10 à 60 minutes avant le sacrifice des rats. * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=5-6$.



perméabilité capillaire induites par le furosémide à dix minutes, tel que démontré plus haut, ainsi qu'à 60 minutes. De même, l'antagoniste du thromboxane A_2 , le L-655,240, également administré par voie intrapéritonale 60 minutes avant l'injection de furosémide, bloque les augmentations de la perméabilité capillaire notées en présence du diurétique seul (figures 20 et 21). Comme l'indométacine, le L-655,240 administré seul n'affecte pas l'extravasation basale de BE. Finalement, un troisième agent, l'antagoniste des récepteurs AT_1 de l'angiotensine L-158,809, empêche lui aussi les élévations de la perméabilité capillaire induites par le furosémide lorsque administré par voie intraveineuse 20 minutes avant le diurétique. Encore une fois, ce produit administré seul n'a aucun effet sur l'extravasation basale de BE.

1.3. Agents antihypertenseurs - administration chronique

Les effets chroniques d'agents antihypertenseurs de différentes classes sur la perméabilité capillaire sont évalués après 10 jours de traitement (figures 22 à 26). Les composés choisis sont administrés par gavage aux doses recommandées (en mg/kg) pour le traitement chronique de l'hypertension chez l'homme. Parallèlement à ce qui a été observé chez les rats recevant l'injection aiguë des diurétiques, la pression artérielle des rats n'a pas été modifiée par l'administration chronique de ces agents, tel que vérifié aux jours 9, 10 des gavages et au jour 11 (correspondant au jour où se mesure la perméabilité capillaire) à l'aide d'une manchette placée autour de la queue (Tableau II).

Figure 20. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire: rôles du thromboxane A_2 et de l'angiotensine II. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg), administré 10 ou 60 minutes avant le sacrifice des rats, seul (■) ou après prétraitement avec indométacine (5.0 mg/kg; ▨), L-655,240 (2.0 mg/kg; ■) ou L-158,809 (0.3 mg/kg; ■). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. § $P < 0.05$ et §§ $P < 0.01$ vs furosémide. $n = 5-6$.

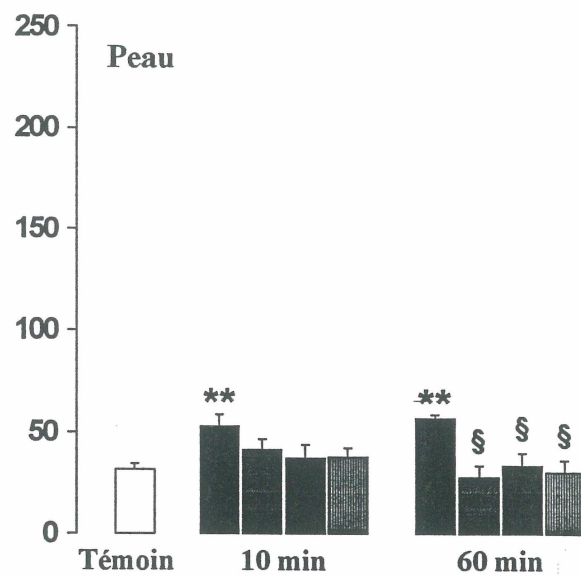
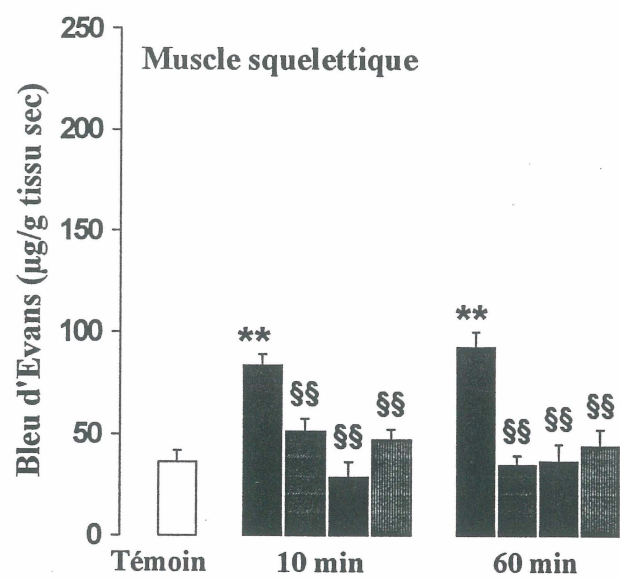
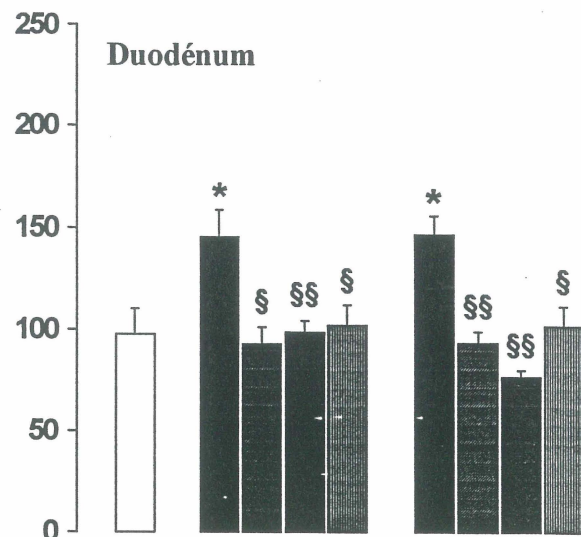
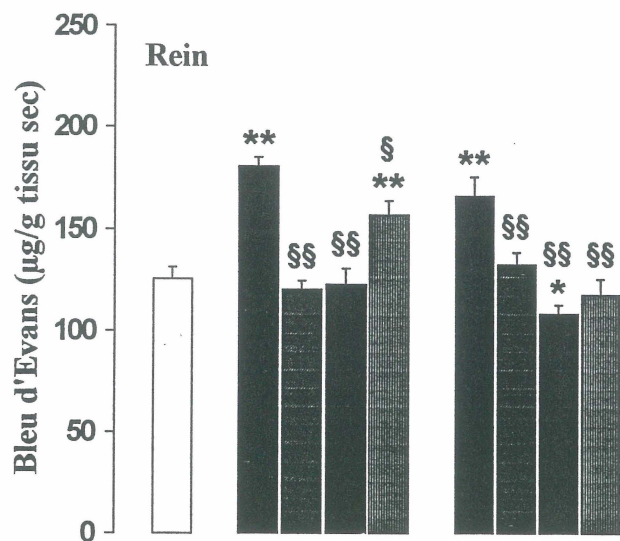


Figure 21. Effets en fonction du temps du furosémide sur la perméabilité capillaire: rôles du thromboxane A₂ et de l'angiotensine II. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg), administré 10 ou 60 minutes avant le sacrifice des rats, seul (■) ou après prétraitement avec indométacine (5.0 mg/kg; ▨), L-655,240 (2.0 mg/kg; ■) ou L-158,809 (0.3 mg/kg; ■). *P<0.05 et **P<0.01 vs témoin. §P<0.05 et §§P<0.01 vs furosémide. n=5-6.

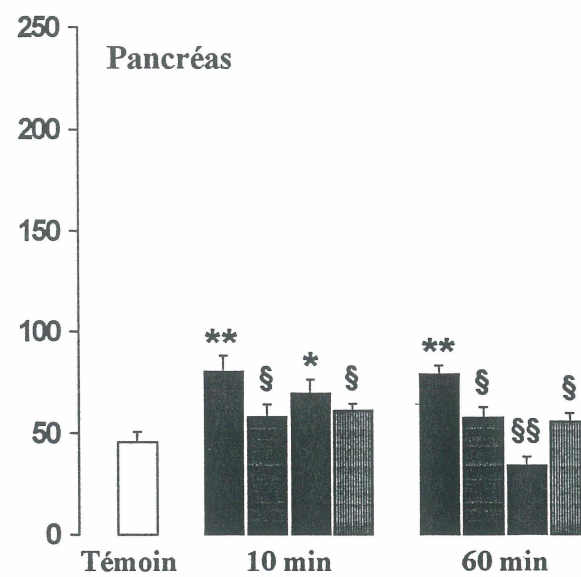
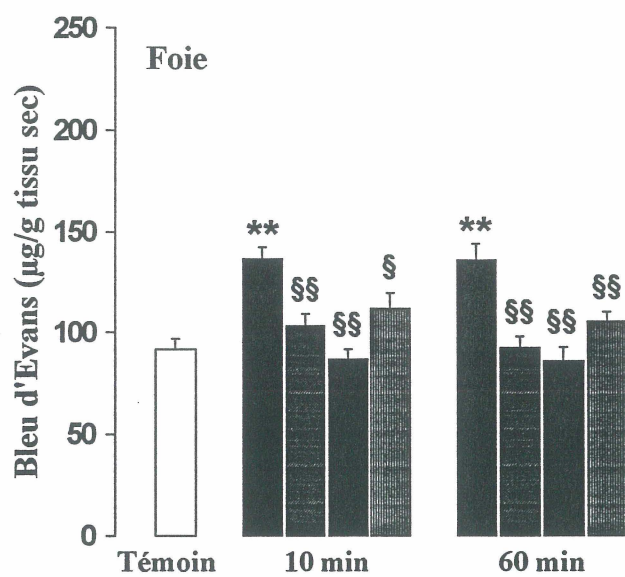
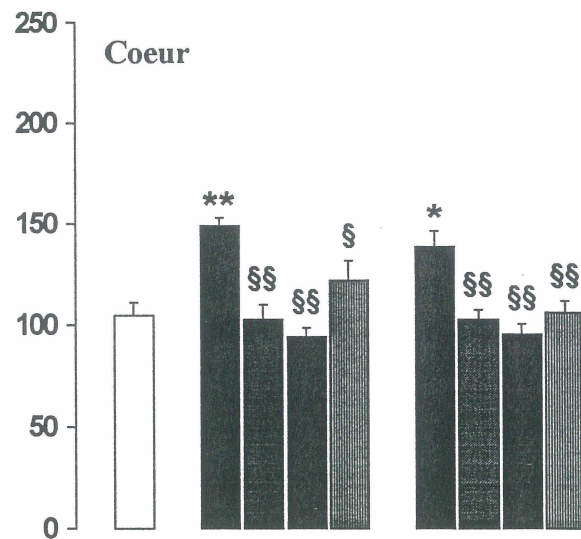
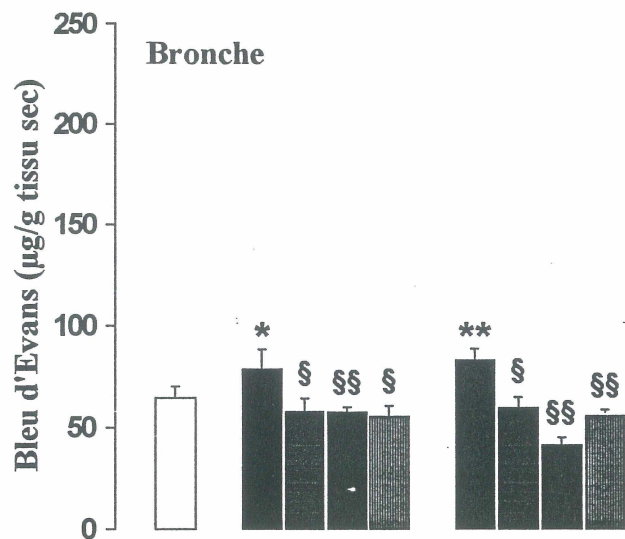


Tableau II. Effets de 10 jours de gavage avec un diurétique antihypertenseur (indapamide, ciclétanine, amiloride, hydrochlorothiazide ou furosémide), un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (captopril ou périndopril) ou un antagoniste calcique (vérapamil, nifédipine ou clentiazem) sur la pression artérielle (mmHg) mesurée avant et après les gavages chez le rat Wistar. **P<0.01 après vs avant traitement. n=3-6

Traitement	Avant	Après
Furosémide	117 ± 1	126 ± 6
Hydrochlorothiazide	145 ± 4	134 ± 5
Amiloride	143 ± 5	149 ± 7
Ciclétanine	132 ± 5	145 ± 6
Indapamide	152 ± 1	140 ± 4
Périndopril	133 ± 4	112 ± 4**
Captopril	138 ± 1	113 ± 2**
Nifédipine	122 ± 4	124 ± 4
Vérapamil	120 ± 7	115 ± 5
Clentiazem	138 ± 4	124 ± 2**

L'administration chronique des diurétiques produit des effets hétérogènes sur la perméabilité capillaire de différents tissus. Néanmoins, ces modifications sont en général moins marquées qu'après traitement aigu avec les mêmes agents. Par exemple, seul le furosémide augmente la perméabilité capillaire, et uniquement au niveau de la bronche (37%; $P<0.01$) et du pancréas (44%; $P<0.05$; figure 22). Par ailleurs, l'hydrochlorothiazide et l'amiloride n'affectent aucunement l'extravasation de BE dans les tissus (figures 22 et 23). Cependant, l'extravasation de BE est atténuée dans le duodénum et le coeur des rats traités à la cicléstanine, de -33 ($P<0.01$) et -34% ($P<0.01$) respectivement (figure 23). De même, l'indapamide réduit la perméabilité capillaire de plusieurs tissus, le muscle squelettique (-64%; $P<0.05$), le pancréas (-22, $P<0.05$) le duodénum (-34%; $P<0.01$) et le rein (-21%; $P<0.05$; figure 24).

Les deux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, le captopril et le périndopril, ont également des effets divergeants sur la perméabilité capillaire basale (figure 25). En effet, le contenu interstitiel de BE est diminué significativement par le périndopril dans la plupart des tissus, dont le muscle squelettique, le pancréas, la bronche, le foie, le duodénum, le coeur et l'aorte, par 71, 40, 43, 37, 42, 50 et 54% respectivement ($P<0.01$ pour tous sauf le muscle squelettique: $P<0.05$). Seuls la perméabilité capillaire de la peau et du rein n'est pas réduite de façon significative. En revanche, le captopril réduit l'extravasation de BE ($P<0.05$) uniquement dans la bronche (33%), le coeur (20%) et l'aorte (33%). Par ailleurs, cet agent augmente la perméabilité capillaire du muscle squelettique, de 74% ($P<0.05$). Par contre, le périndopril et le captopril diminuent la pression artérielle de façon similaire, de -16 et -18% respectivement ($P<0.01$; Tableau II).

Figure 22. Effets chroniques d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg) ou l'hydrochlorothiazide (0.5 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.

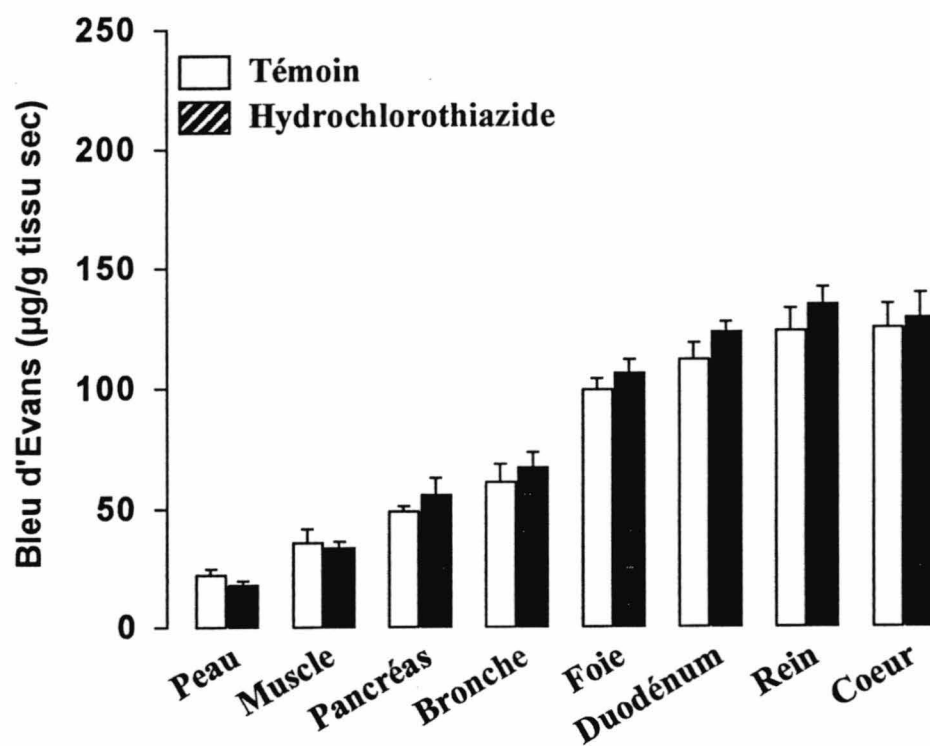
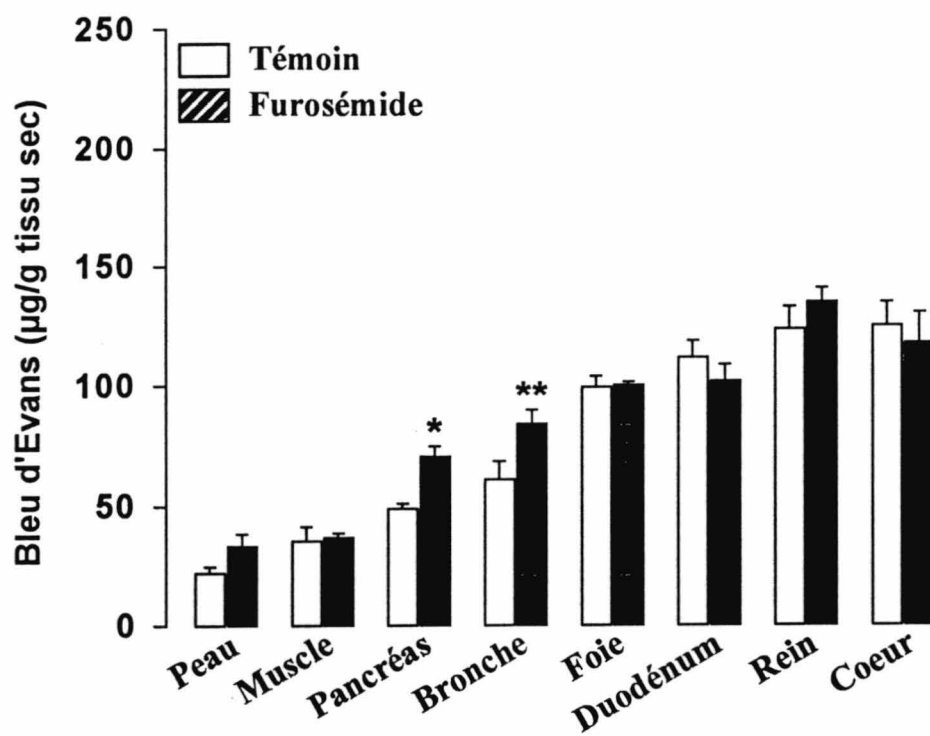


Figure 23. Effets chroniques des antihypertenseurs diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'amiloride (0.3 mg/kg) ou la ciclétanine (2.0 mg/kg). ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.

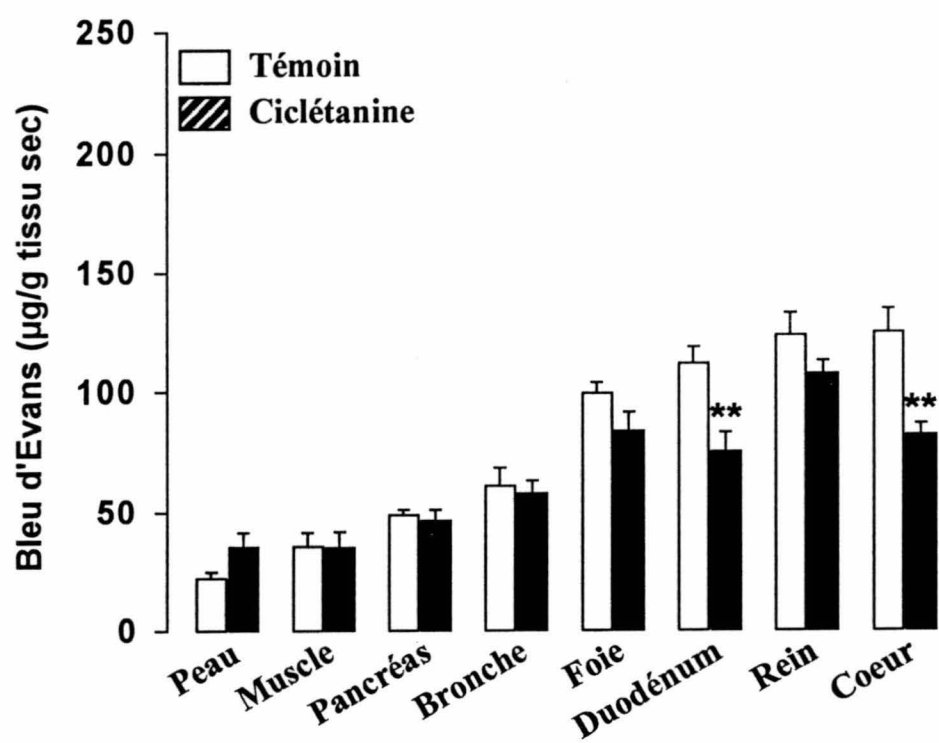
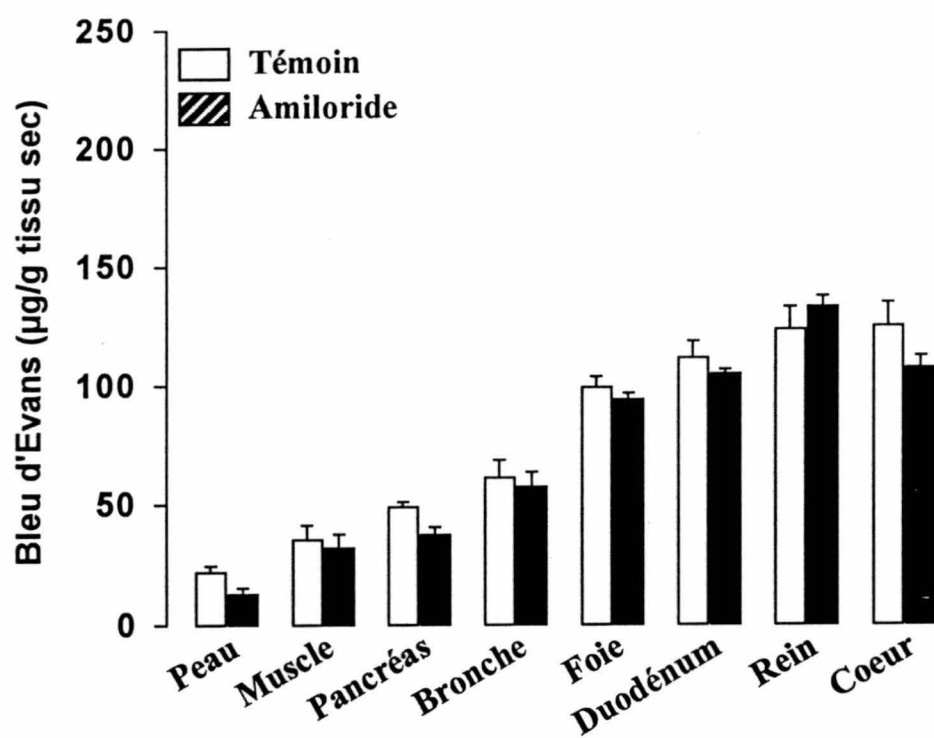


Figure 24. Effets chroniques des antihypertenseurs diurétiques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec l'indapamide (0.04 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n = 5-6$.

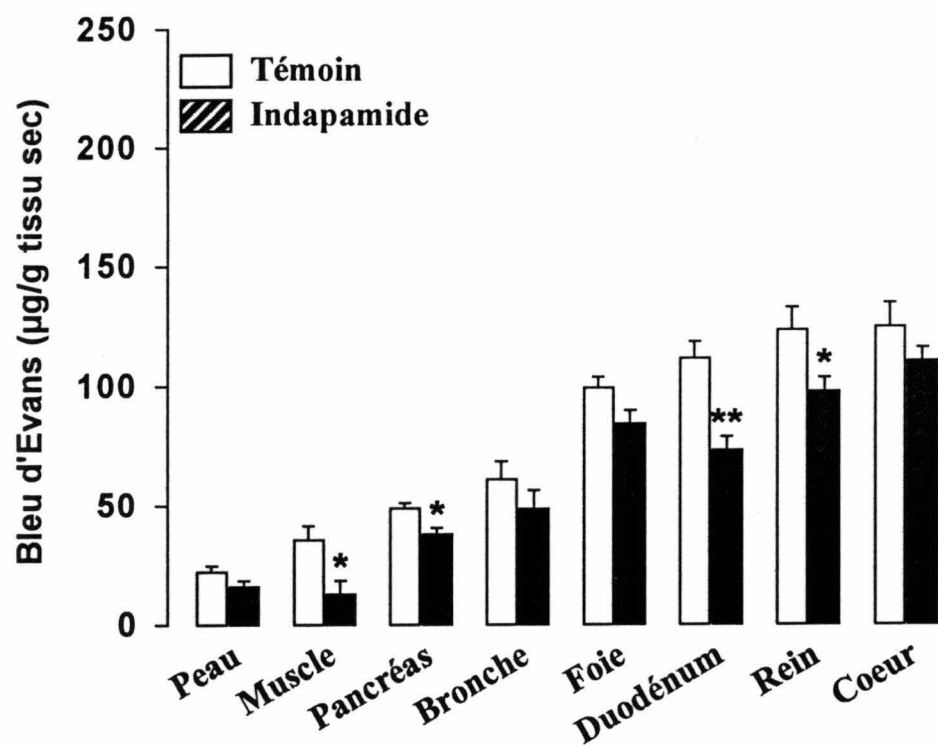
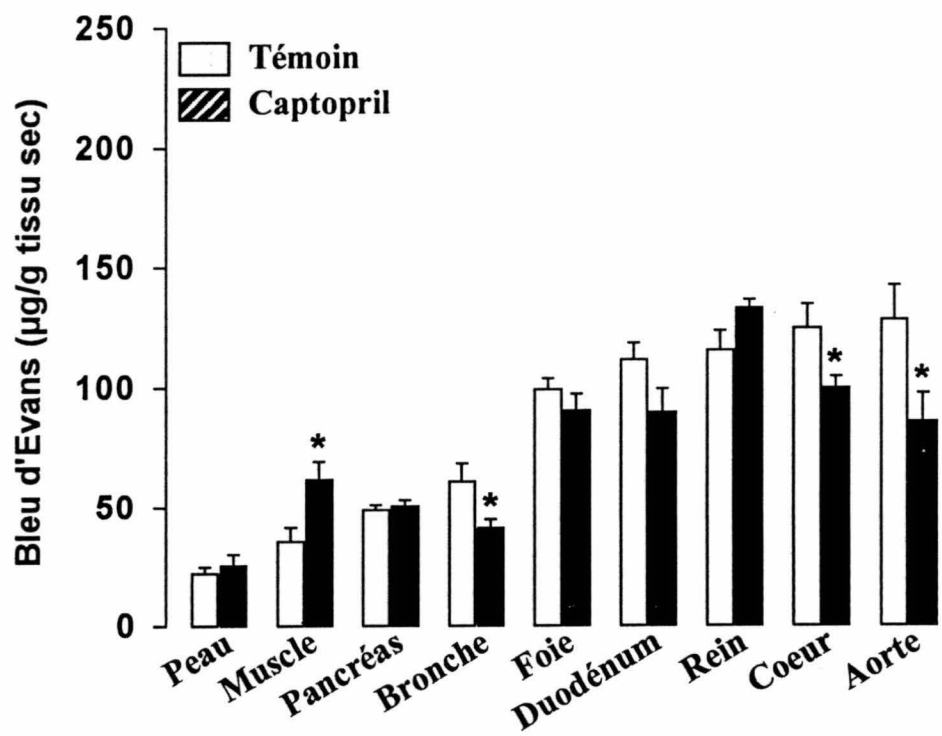
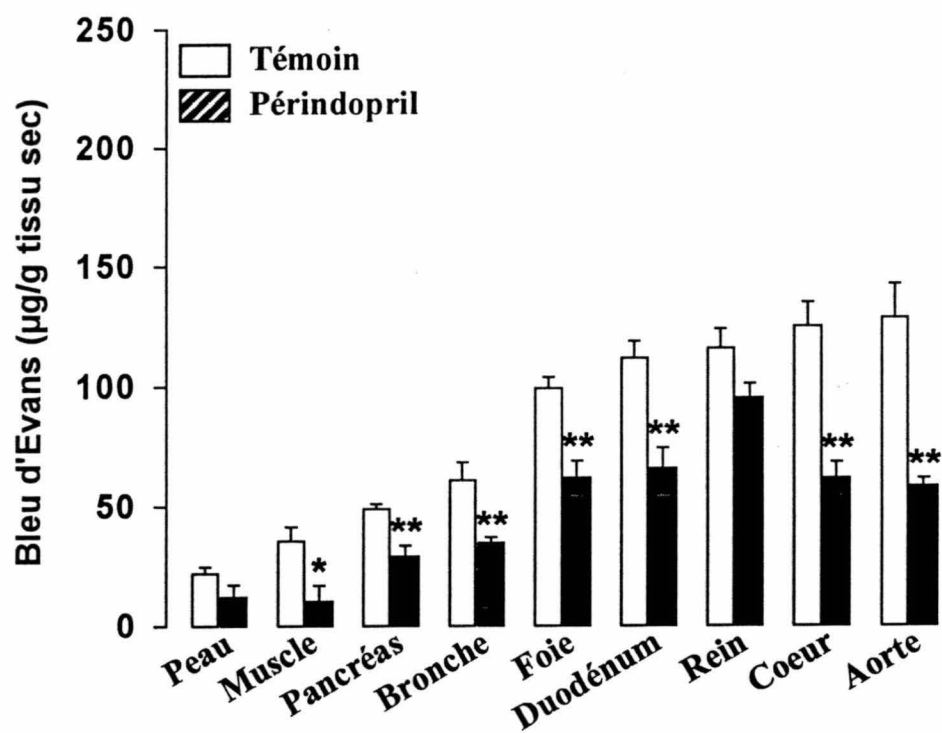


Figure 25. Effets chroniques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le périndopril (0.3 mg/kg) ou le captopril (3.0 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.



Les effets de trois antagonistes calciques provenant des trois classes différentes sont également hétérogènes (figures 26 et 27). La nifédipine (1.0 mg/kg) réduit l'extravasation de BE dans presque tous les tissus, soit le muscle squelettique (-83%; $P<0.01$), le pancréas (-66%; $P<0.01$), la bronche (-41%; $P<0.05$), le foie (-34%; $P<0.01$), le duodénum (-39%), le rein (-26%; $P<0.01$), le coeur (-55%; $P<0.01$) et l'aorte (-47%; $P<0.01$). Par contre, le vérapamil (7.0 mg/kg) réduit significativement ($P<0.01$) la perméabilité capillaire du coeur (-27%) et de l'aorte (-54%) mais augmente l'extravasation de BE dans la peau (80%; $P<0.01$). Finalement, seules des augmentations de la perméabilité capillaire sont notées sous clentiazem au niveau du muscle squelettique (100%; $P<0.01$), du pancréas (54%; $P<0.01$) et du foie (14%; $P<0.05$). Par ailleurs, ce dernier antagoniste calcique est le seul à réduire la pression artérielle, de -10% ($P<0.01$; Tableau II).

1.4. Rats spontanément hypertendus - traitements chroniques

Dans une autre série d'expériences, la perméabilité capillaire de rats spontanément hypertendus est évaluée (figures 28 à 33). Les résultats démontrent que chez ces animaux, l'extravasation basale de BE est supérieure aux valeurs obtenues chez le rat Wistar normotendu dans presque tous les tissus. En effet, la perméabilité capillaire de la peau, du muscle squelettique, du pancréas, de la bronche, de l'aorte, du duodénum, du foie et du rein est plus élevée chez le SHR que le rat Wistar, de 99 ($P<0.01$), 180 ($P<0.01$), 41 ($P<0.01$), 49 ($P<0.05$), 74 ($P<0.01$), 31 ($P<0.05$), 33 ($P<0.01$) et 57 % ($P<0.01$) respectivement (figure 28). Comme chez le rat Wistar, l'extravasation basale de BE dans les tissus du SHR est modifiée par divers traitements avec des agents antihypertenseurs.

Figure 26. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la nifédipine (1.0 mg/kg) ou le vérapamil (7.0 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.

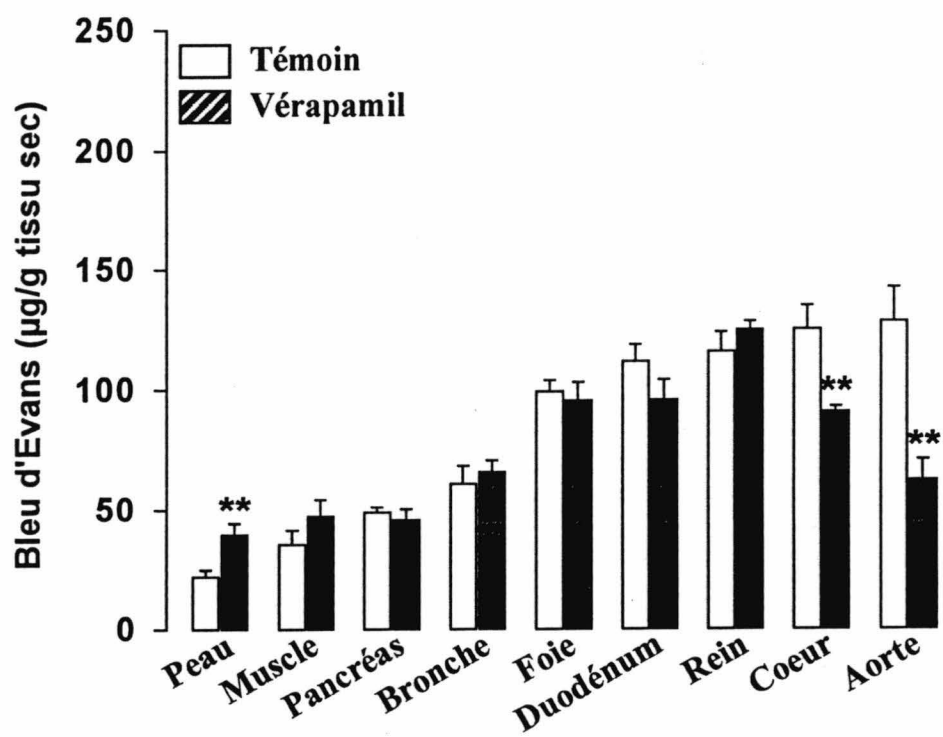
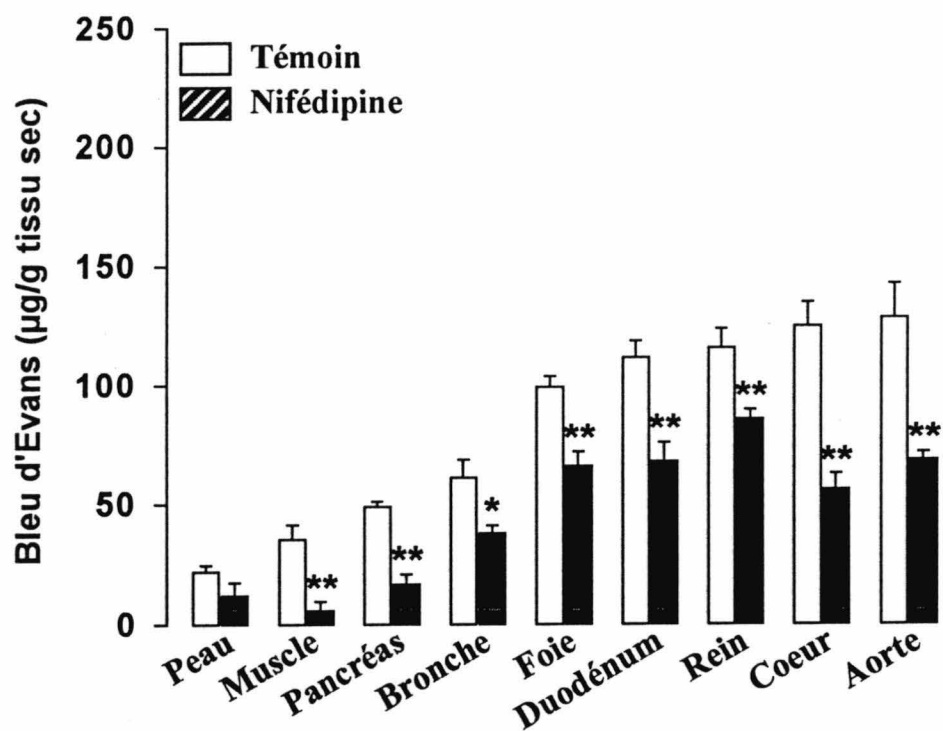


Figure 27. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire. Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le clentiazem (0.1 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs témoin. $n=6$.

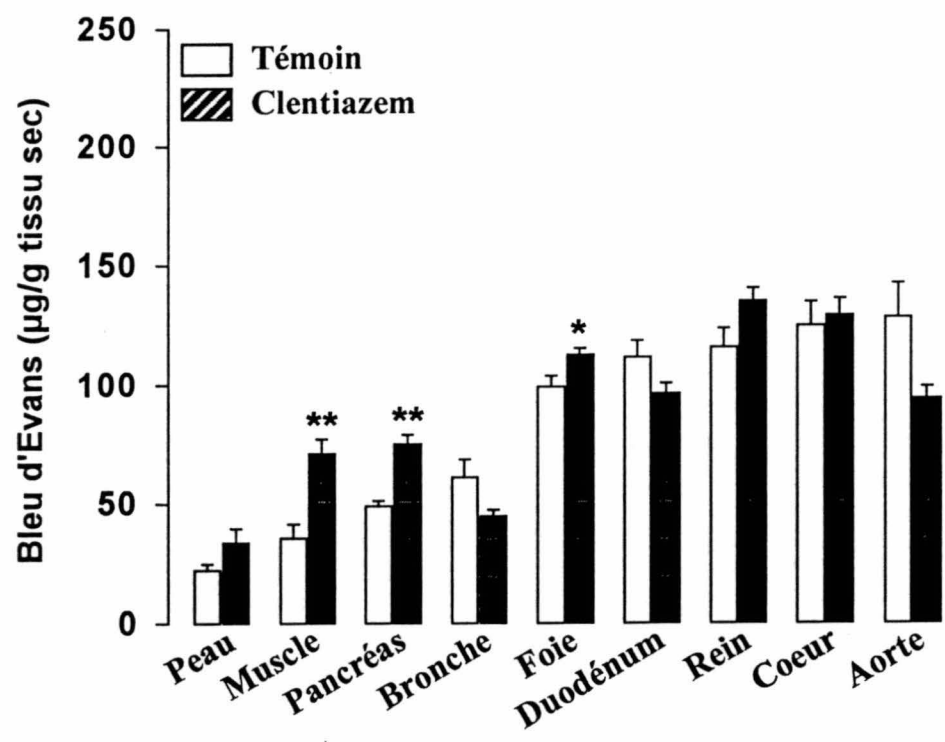
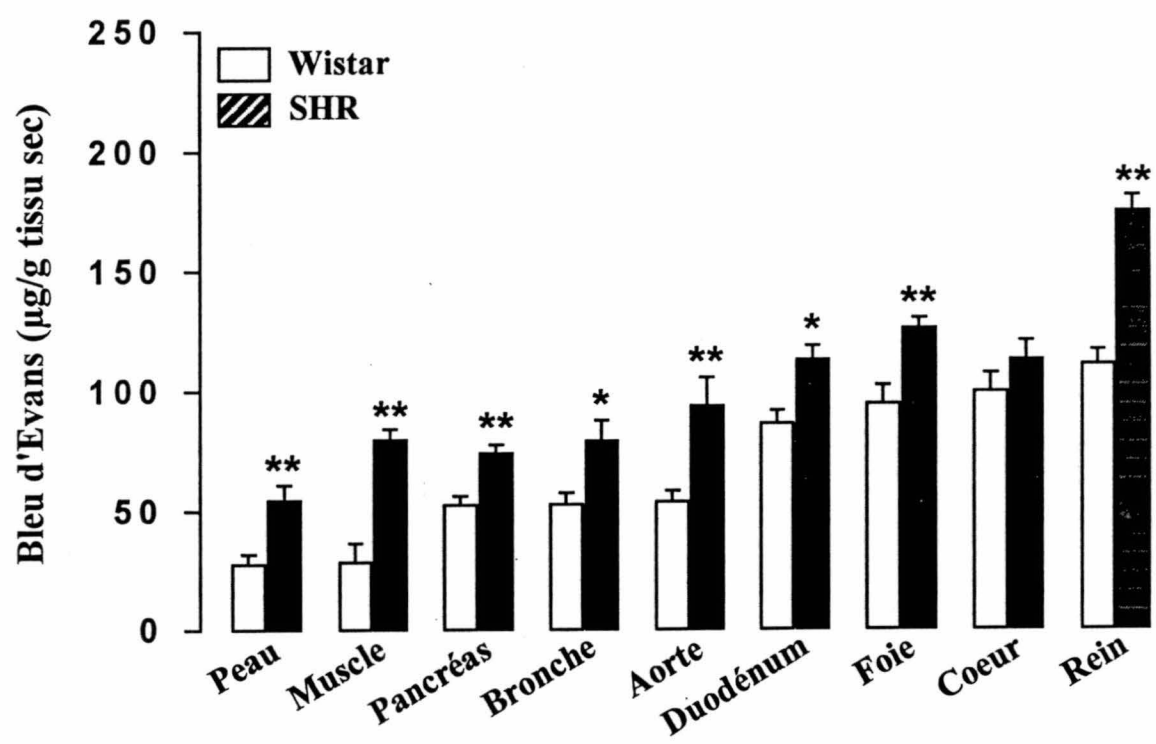


Figure 28. Comparaison de la perméabilité capillaire témoin chez des rats normotendus (Wistar) et spontanément hypertendus (SHR). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs rats Wistar. $n=6$.



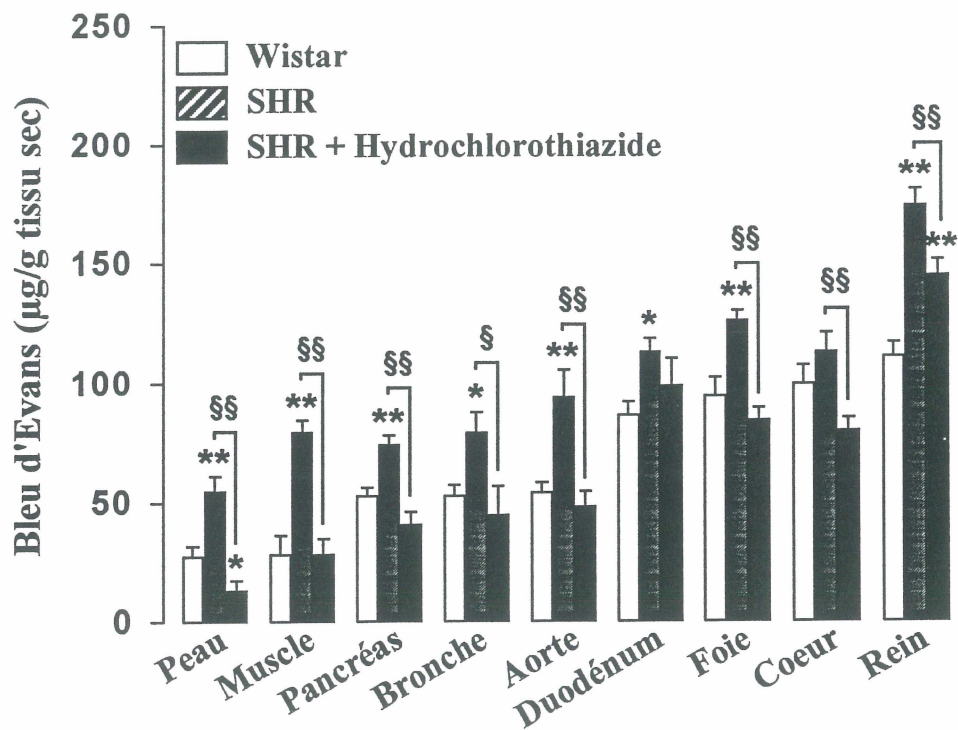
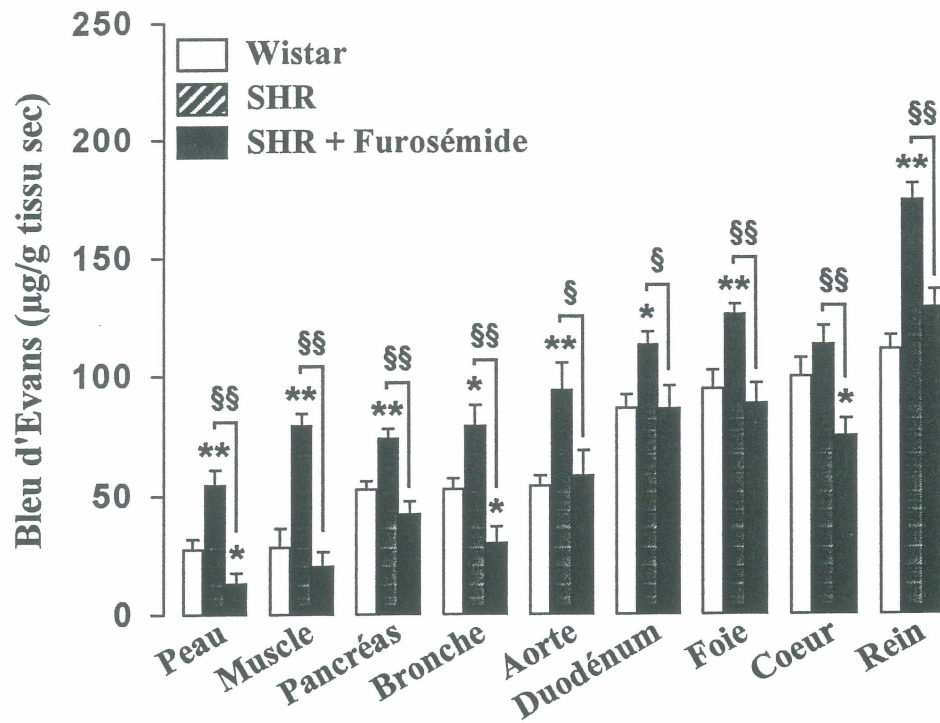
Néanmoins, les diurétiques ne modifient pas la pression artérielle significativement chez le SHR, alors que les IEC périndopril et captopril réduisent la tension de -7 et -8% respectivement ($P<0.05$), de même que les antagonistes calciques (nifédipine: -8%; $P<0.05$, vérapamil: -9%; $P<0.05$, clentiazem -16%; $P<0.01$; Tableau III).

Les quatre agents diurétiques réduisent la perméabilité capillaire de différents tissus chez le SHR. Cependant, seul le furosémide induit une baisse de l'extravasation de BE jusqu'aux niveaux observés chez le rat Wistar dans tous les tissus (figure 29). En effet, suite au traitement chronique avec cet agent, le contenu en BE de la peau, du muscle squelettique, du pancréas, de la bronche, de l'aorte, du duodénum, du foie, du coeur et du rein est diminué de 24 à 76% ($P<0.01$ pour tous les tissus à part l'aorte et le duodénum: $P<0.05$). L'hydrochlorothiazide réduit également ($P<0.01$) la perméabilité capillaire d'un nombre important de tissus, dont la peau (-76%), le muscle squelettique (-64%), le pancréas (-45%), la bronche (-43%), l'aorte (-49%), le duodénum (-33%), le coeur (-29%) et le rein (-17%) tel que montré sur la figure 29. Néanmoins, avec ce diurétique, l'extravasation de BE dans le rein demeure supérieure de 30% ($P<0.01$) à la valeur de base du même tissu chez le rat Wistar. De façon similaire, la perméabilité capillaire du rein est plus élevée (36%; $P<0.01$) chez le SHR traité avec la ciclétanine que chez le rat Wistar, même si le diurétique réduit l'extravasation de BE de 13% dans ce tissu ($P<0.05$). Dans la peau, le muscle squelettique, le pancréas, et le duodénum, la ciclétanine diminue la perméabilité capillaire de 66 ($P<0.01$), 62 ($P<0.01$), 31 ($P<0.05$) et 23% ($P<0.01$) respectivement (figure 30). Finalement, l'indapamide réduit le contenu en BE de l'aorte uniquement (-49%; $P<0.01$). Ainsi, la perméabilité capillaire chez le SHR traité avec ce quatrième diurétique reste supérieure aux valeurs retrouvées chez le rat Wistar dans le

Tableau III. Effets de 10 jours de gavage avec un diurétique antihypertenseur (indapamide, ciclétanine, amiloride, hydrochlorothiazide ou furosémide), un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (captopril ou périndopril) ou un antagoniste calcique (vérapamil, nifédipine ou clentiazem) sur la pression artérielle (mmHg) mesurée avant et après les gavages chez le rat spontanément hypertendu. *P<0.05 et **P<0.01 après vs avant traitement. n=3-6

Traitement	Avant	Après
Témoin	179 ± 5	185 ± 5
Furosémide	164 ± 4	154 ± 7
Hydrochlorothiazide	157 ± 6	162 ± 4
Ciclétanine	164 ± 3	173 ± 7
Indapamide	166 ± 6	159 ± 8
Périndopril	152 ± 9	141 ± 5*
Captopril	189 ± 2	175 ± 4*
Nifédipine	176 ± 3	162 ± 4*
Vérapamil	156 ± 7	142 ± 3*
Clentiazem	158 ± 4	133 ± 5**

Figure 29. Effets chroniques d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le furosémide (0.5 mg/kg) ou l'hydrochlorothiazide (0.5 mg/kg). *P<0.05 et **P<0.01 vs rats Wistar. §P<0.05 et §§P<0.01 vs SHR non traité. n=6.



muscle squelettique (185%; $P<0.01$), le pancréas (60%; $P<0.01$), la bronche (72%; $P<0.05$), le foie (57%; $P<0.01$) et le rein (72%; $P<0.01$) tel que montré sur la figure 30.

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine produisent également des effets variés sur la perméabilité capillaire des rats SHR. Tel que démontré dans la figure 31, le périndopril diminue la perméabilité capillaire de presque tous les tissus; l'extravasation de BE est réduite dans la peau, le muscle squelettique, la pancréas, la bronche, le duodénum, le foie, le coeur et le rein, de 62 ($P<0.01$), 60 ($P<0.01$), 57 ($P<0.01$), 60 ($P<0.05$), 41 ($P<0.01$), 21 ($P<0.05$), 25 ($P<0.05$) et 29% ($P<0.01$) respectivement. De plus, la baisse de la perméabilité capillaire de l'aorte rejoint les niveaux obtenus chez le rat Wistar normotendu. Le captopril, par contraste, atténue l'extravasation de BE dans deux tissus seulement, le muscle squelettique (-19%; $P<0.05$) et le rein (-25%; $P<0.01$). Néanmoins, la perméabilité capillaire des ces tissus demeure au dessus des valeurs retrouvées chez le rat Wistar, de 126 ($P<0.01$) et 17% ($P<0.05$) respectivement, ainsi que celle de la peau (56%; $P<0.05$), du pancréas (25%; $P<0.05$), de l'aorte (58%; $P<0.01$) et du duodénum (38%; $P<0.01$).

Les modifications de la perméabilité capillaire induites par divers antagonistes calciques sont plus modestes. En effet, la nifédipine, par exemple, diminue l'extravasation de BE significativement ($P<0.05$) uniquement au niveau de la peau (-35%) et du duodénum (-18%). Toutefois, ce n'est que dans le muscle squelettique et le rein que perméabilité capillaire des SHR traités avec cet agent demeure supérieure aux données obtenues chez le rat Wistar, de 130 ($P<0.05$) et 45% ($P<0.01$) respectivement (figure 32). Le clentiazem induit des réponses similaires (figure 33). Comme la nifédipine, cet antagoniste calcique réduit la perméabilité capillaire de la plupart des tissus aux niveaux

Figure 30. Effets chroniques d'antihypertenseurs de la classe des diurétiques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la cicléanine (2.0 mg/kg) ou l'indapamide (0.04 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs rats Wistar. § $P < 0.05$ et §§ $P < 0.01$ vs SHR non traité. $n=6$.

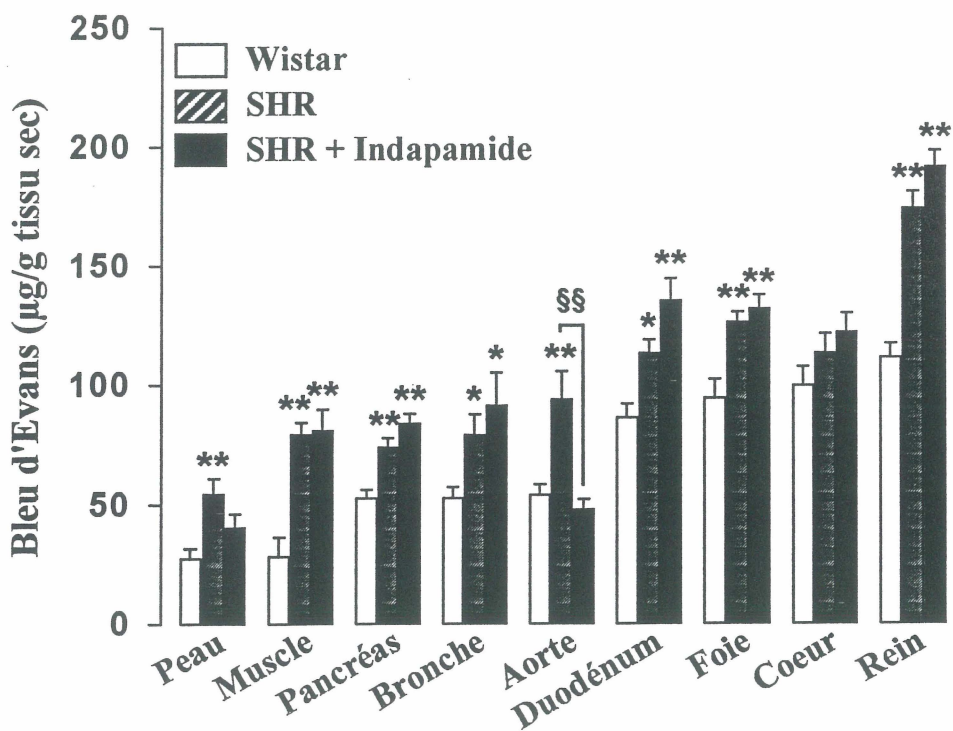
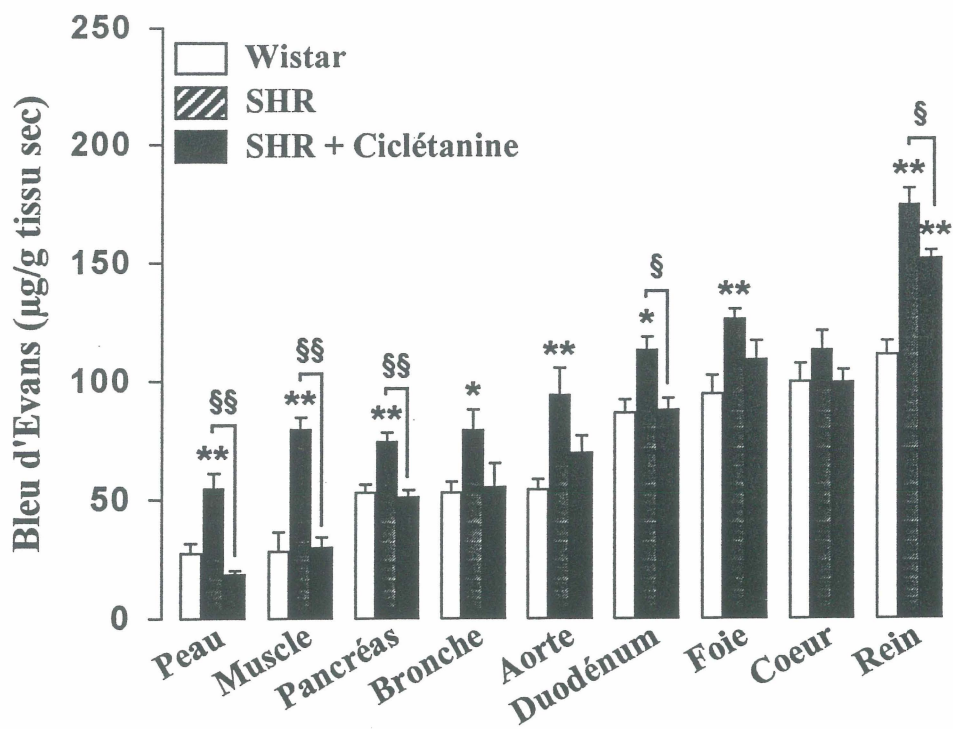
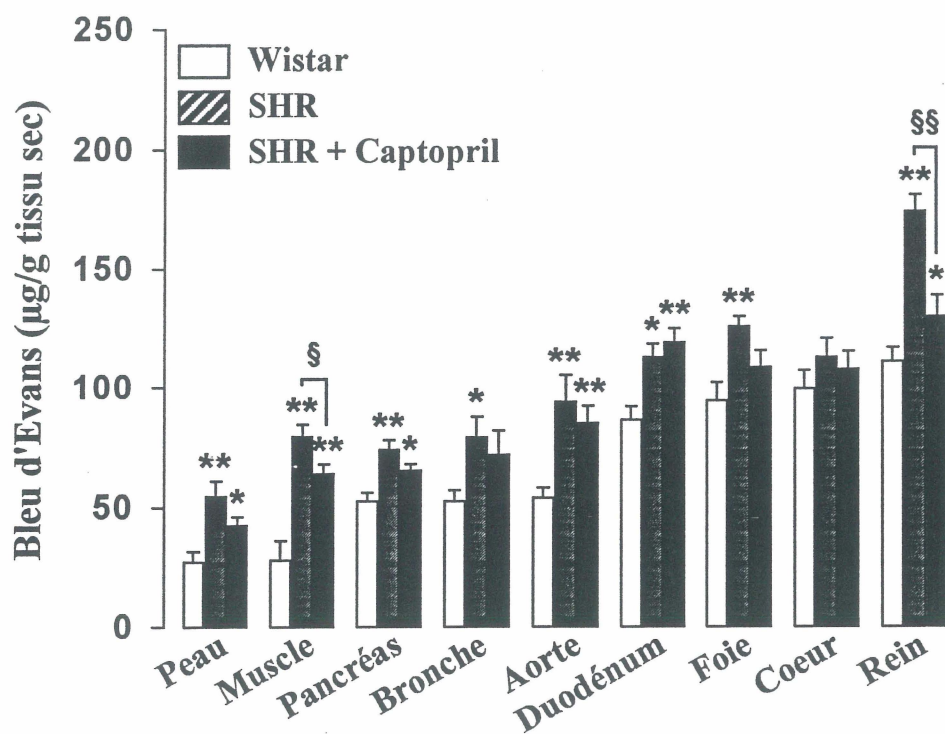
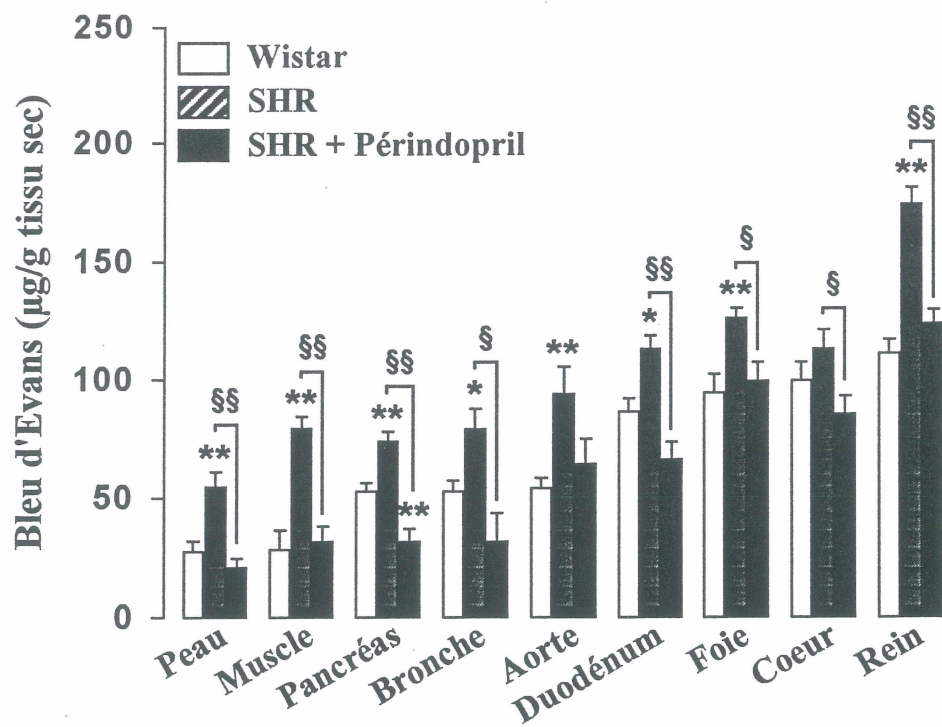


Figure 31. Effets chroniques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le périndopril (0.3 mg/kg) ou le captopril (3.0 mg/kg). *P<0.05 et **P<0.01 vs rats Wistar. §P<0.05 et §§P<0.01 vs SHR non traité. n=6.



retrouvés chez le rat Wistar, mais cette réduction n'est significative que dans la peau (-40%; $P<0.05$), le muscle squelettique (-49%; $P<0.01$), le foie (-25%; $P<0.01$) et le rein (-24%; $P<0.01$). Malgré la réduction de l'extravasation de BE dans le rein, la perméabilité capillaire de ce tissu chez les rats SHR traités au clentiazem est plus élevée (20%; $P<0.01$) que chez les rats Wistar, de même que la perméabilité de la bronche (55%; $P<0.05$). Finalement, non seulement la vérapamil ne réduit-il pas l'extravasation de BE dans les tissus, mais il l'augmente dans le muscle squelettique (31%; $P<0.01$) et le foie (16%; $P<0.05$). Ainsi, la perméabilité capillaire des rats SHR traités avec ce produit est supérieure à celle des rats Wistar dans la peau, le muscle squelettique, le pancréas, la bronche, l'aorte, le duodénum, le foie, et le rein, de 71 ($P<0.05$), 268 ($P<0.01$), 64 ($P<0.01$), 67 ($P<0.05$), 115 ($P<0.01$), 44 ($P<0.01$), 54 ($P<0.01$) et 71% ($P<0.01$) respectivement (figure 32).

Figure 32. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec la nifédipine (1.0 mg/kg) ou le vérapamil (7.0 mg/kg). *P<0.05 et **P<0.01 vs rats Wistar. §P<0.05 et §§P<0.01 vs SHR non traité. n=6.

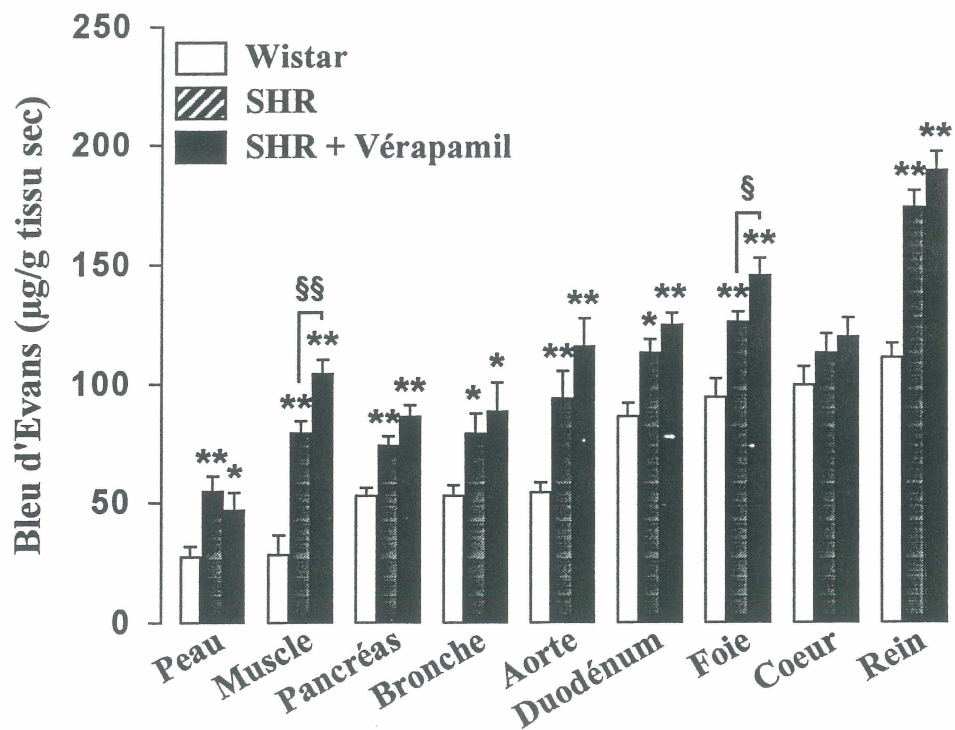
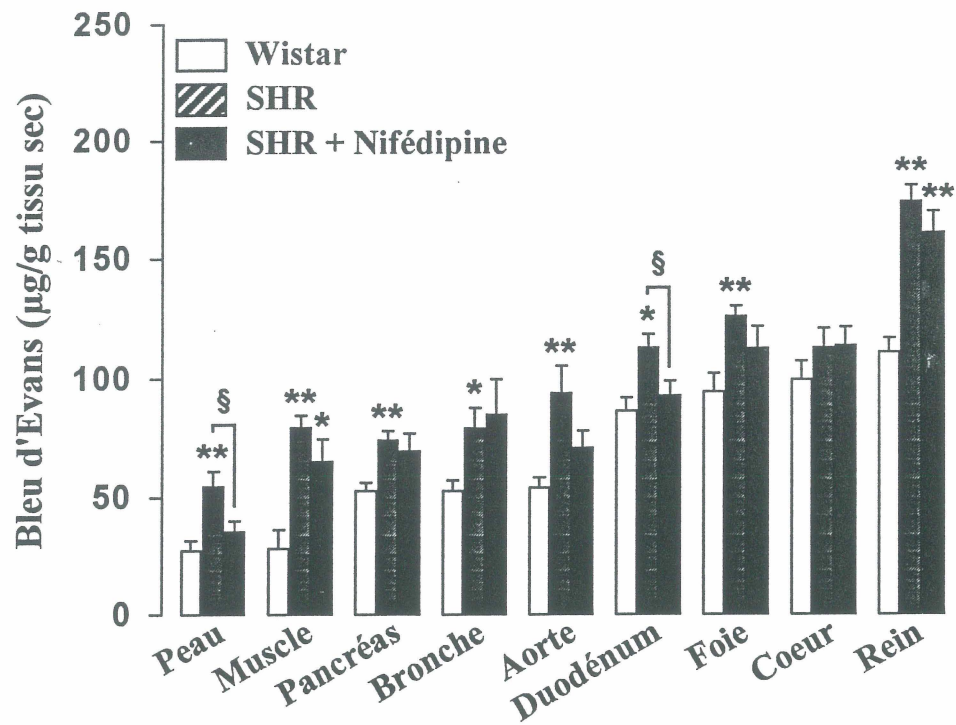
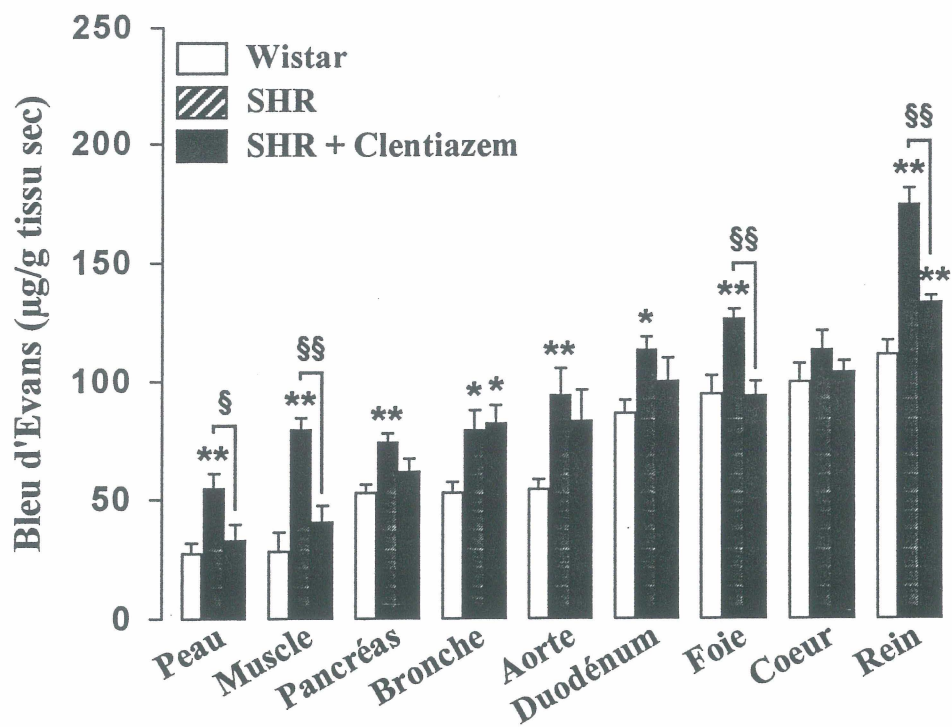


Figure 33. Effets chroniques des bloqueurs des canaux calciques sur la perméabilité capillaire chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Comparaison de l'extravasation de BE chez des rats témoins et des rats traités avec le clentiazem (0.1 mg/kg). * $P < 0.05$ et ** $P < 0.01$ vs rats Wistar. § $P < 0.05$ et §§ $P < 0.01$ vs SHR non traité. $n=6$.



2. DISCUSSION

2.1. Diurétiques - administration aiguë

La réponse initiale au traitement diurétique est une réduction du volume plasmatique, une conséquence de la perte rénale d'eau et de sel (CONWAY et LAUWERS, 1960; DAVIDOV *et al.*, 1969; HANSEN, 1968; LETH, 1970). Comme le fluide est transféré du compartiment interstitiel ou intracellulaire vers le compartiment vasculaire pour compenser l'augmentation de diurèse et de natriurèse, des mécanismes de compensation sont activés, bien que le volume plasmatique puisse demeurer sous la normale pendant les premières semaines de traitement (HANSEN, 1968). Malgré tout, l'usage chronique de ces agents s'accompagne presque toujours par la normalisation du volume vasculaire (DAVIDOV *et al.*, 1969; LETH, 1970). Ainsi, la pression sanguine est d'abord réduite suite à la déplétion du volume vasculaire, ce qui diminue le débit cardiaque et produit une élévation de la résistance vasculaire (DAVIDOV *et al.*, 1969). Le débit cardiaque et le volume vasculaire sont graduellement restaurés (CONWAY et LAUWERS, 1960; SHAH *et al.*, 1978), et la réduction de la pression artérielle est maintenue à long terme par une diminution de la résistance périphérique (VAN-BRUMMELEN *et al.*, 1980).

Il est intéressant de noter que les plus grandes augmentations de perméabilité capillaire ont lieu chez les rats traités avec les diurétiques les plus puissants. (REYES et LEARY, 1993). Ainsi, l'injection aiguë de furosémide a produit les plus importantes élévations de la perméabilité vasculaire, suivi par l'indapamide et l'hydrochlorothiazide.

Paradoxalement, le furosémide est fréquemment employé dans le traitement de l'oedème pulmonaire (BERNER *et al.*, 1989). Toutefois, l'absence d'effets du furosémide (et des autres diurétiques) sur le rapport poids humide/poids sec des tissus confirme que ces agents n'induisent pas d'oedèmes tissulaires. L'injection intraveineuse de furosémide augmente le volume urinaire en moins de 10 minutes, ce qui met en évidence l'activation rapide de la diurèse, qui s'effectue en grande partie par le recrutement de fluide des compartiments interstitiel et intracellulaire (BOCK et STEIN, 1988). Il est également connu que le furosémide induit plusieurs changements au niveau de la circulation centrale, telles que l'augmentation de la capacitance veineuse (BOCK et STEIN, 1988; DIKSHIT *et al.*, 1973; JOHNSTON *et al.*, 1983) et l'augmentation du flot plasmatique rénal (DATA *et al.*, 1978). La mobilisation rapide de fluide des compartiments interstitiel et intracellulaire est synchronisée avec l'augmentation de la perméabilité capillaire observée. L'élévation du contenu tissulaire en BE indique que l'albumine occupe une certaine fraction de l'espace interstitiel qui ne serait donc plus accessible à l'eau (QIAO *et al.*, 1993). L'amplification de l'extravasation d'albumine induite par le furosémide ne serait donc pas incompatible avec une réduction du contenu d'eau interstitiel dans les mêmes lits vasculaires. Ceci est confirmé par l'absence d'oedèmes dans des organes où l'extravasation de BE est majorée. D'autres chercheurs ont observé une élévation du transport transvasculaire de l'albumine chez le porc (HENRIKSEN *et al.*, 1982) et une augmentation de l'excrétion urinaire d'albumine chez des patients avec une atteinte glomérulaire suite à l'administration du furosémide (PASTERNAK *et al.*, 1978).

Le profil de la perméabilité capillaire, variant d'un organe à l'autre, pourrait témoigner des différentes capacités de perméabilisation de lits capillaires distincts et des

mécanismes locaux d'autorégulation (SAXENA et BOLT, 1986). Par exemple, les circulations gastro-intestinale, musculaire et cutanée sont plus sensibles à la vasoconstriction induite par le système nerveux autonome et le système rénine-angiotensine (SAXENA et BOLT, 1986). La distribution hétérogène des récepteurs, la relâche de médiateurs de vasoconstriction ou la dilatation agissant sur des régions vasculaires différentes, et/ou la présence de systèmes de régulation locaux (RICHARD *et al.*, 1993) seraient donc potentiellement impliqués.

Il semble improbable que les changements dans l'extravasation de BE notés dans la présente étude soient une conséquence directe de l'augmentation de la diurèse. Les effets vasculaires des diurétiques ont été observés à des doses inférieures à celles requises pour l'induction de la diurèse (CASTRO *et al.*, 1990; MIRONNEAU, 1988), et l'indométacine, qui réduit la réponse vasculaire de tous les diurétiques testés, n'abolit pas la réponse natriurétique à l'hydrochlorothiazide (FAVRE *et al.*, 1983) ou la réponse diurétique au furosémide (DATA *et al.*, 1978). De plus, les changements dans l'extravasation de BE ne dépendent pas d'une variation de la pression artérielle, puisque l'injection des diurétiques n'a pas modifié ce paramètre de façon significative. De même, le furosémide réduit la filtration de fluide pulmonaire indépendamment de son effet sur la pression artérielle (BERNER *et al.*, 1989). Par contre, les métabolites de la cyclo-oxygénase, souvent associés aux effets rénaux et vasculaires des diurétiques (ATTALAH, 1979; DATA *et al.*, 1978; FAVRE *et al.*, 1983; KIRCHNER *et al.*, 1987), sont probablement impliqués, du moins en partie, dans les changements de la perméabilité capillaire observés.

2.2. Diurétiques - mécanismes d'action

Il est connu que quatre des diurétiques examinés dans la présente étude, la ciclétanine, l'indapamide, l'hydrochlorothiazide et le furosémide, augmentent les niveaux circulants de PGI_2 (AUGUET *et al.*, 1988; CLOSTRE et ETIENNE, 1988; DELBARRE *et al.*, 1990; UEHARA *et al.*, 1990). Alors que le furosémide élève également la synthèse de thromboxane (CAMPBELL et BRACKMAN, 1990; UEHARA *et al.*, 1990) et la relâche de PGE_2 (ATTALAH, 1979; DATA *et al.*, 1978; FAVRE *et al.*, 1983; WEBER *et al.*, 1977), l'indapamide, au contraire, réduit la production de TxA_2 (CAMPBELL et BRACKMAN, 1990) et augmente la production de PGI_2 (DELBARRE *et al.*, 1990). La synthèse de PGE_2 est également stimulée par l'hydrochlorothiazide (KIRCHNER *et al.*, 1987) mais inhibée par l'amiloride (DIETER *et al.*, 1987; HOWARD *et al.*, 1987).

La prostaglandine E_2 et le thromboxane A_2 ont tous les deux été associés à une augmentation de la perméabilité capillaire et à l'extravasation d'albumine (DOUKAS *et al.*, 1989; OKIJI *et al.*, 1989; WILLIAMS, 1979). Au contraire, la prostacycline et la prostaglandine E_1 réduisent la perméabilité capillaire (BOXER *et al.*, 1980; GEE *et al.*, 1987; DOUKAS *et al.*, 1989), et l'analogue de la PGI_2 , la carbacycline, induit une relaxation des cellules endothéliales (MOREL *et al.*, 1990), quoique WILLIAMS (1979) a démontré que la PGI_2 accentue l'augmentation de la perméabilité capillaire stimulée par un médiateur de l'inflammation. La contribution des produits de la cyclo-oxygénase dans les altérations aiguës de la perméabilité de plusieurs tissus a donc été évaluée en prétraitant les animaux avec l'indométacine avant l'injection des diurétiques. Selon plusieurs études, les anti-inflammatoires non stéroïdiens ne réduisent pas les effets des diurétiques sur la

pression artérielle (FAVRE *et al.*, 1983; SAHLOUL *et al.*, 1990), et ne réduisent pas nécessairement l'activation du système rénine-angiotensine par ces agents (FAVRE *et al.*, 1983; SAHLOUL *et al.*, 1990). En revanche, l'indométacine a engendré une réduction de la plupart des changements de l'extravasation de BE induite par les diurétiques. Ainsi, les effets perméabilisants du furosémide découlent probablement d'une augmentation de la synthèse de thromboxane A_2 , et possiblement de PGE_2 . L'hydrochlorothiazide, moins puissante, agit uniquement via la PGE_2 , alors que l'amiloride et la cicléstanine induisent des diminutions de la perméabilité capillaire, impliquant probablement à la fois la stimulation de la PGI_2 et l'inhibition de la PGE_2 . L'élévation de l'extravasation de BE au niveau du rein avec l'indapamide témoigne vraisemblablement d'une synthèse locale de métabolites de la cyclo-oxygénase, notamment la PGE_2 , alors que ses effets sur le pancréas pourrait indiquer que l'indapamide y accroît la production de PGI_2 tout en induisant un autre produit perméabilisant insensible à indométacine.

2.3. Furosémide - mécanismes d'action

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'augmentation de la perméabilité capillaire induite par le diurétique le plus puissant et produisant la réponse endothéliale la plus marquée, la contribution éventuelle de l'angiotensine II ou du thromboxane A₂ est évaluée. D'abord, l'étude de la cinétique révèle que le furosémide induit une augmentation biphasique du contenu tissulaire en BE, particulièrement dans les organes impliqués dans le bilan externe (rein, duodénum) et interne de l'eau (peau, muscle squelettique), mais aussi dans la bronche et le coeur, et de façon moins marquée dans le foie et le pancréas. Le profil de l'extravasation de l'albumine est caractérisé par une élévation importante au cours des 10 minutes qui suivent l'injection, se maintenant pendant 30 à 40 minutes, et précédant dans la plupart des tissus un retour aux valeurs de base avant une deuxième élévation à 60 minutes. Cette extravasation biphasique de BE ressemble à celle décrite dans la réaction d'Arthus (UDAKA *et al.*, 1970). Il est intéressant d'observer que ces modifications de la perméabilité capillaire suivent les changements hormonaux décrits par WEBER *et al.* (1977), qui a noté que l'activité rénine plasmatique et l'excrétion d'acide arachidonique sont majorés 10 minutes après l'administration de furosémide, phénomène suivi par une diminution graduelle entre 30 et 60 minutes et d'une élévation subséquente qui subsiste pendant au moins trois heures. En fait, plusieurs auteurs ont documenté une hausse des métabolites de la cyclo-oxygénase 10 à 15 minutes post-furosémide, dont le thromboxane, la PGE₂, et le 6-keto-PGF_{2 α} , le métabolite de la PGI₂ (ALA-HOUHALA *et al.*, 1987; ATTALAH, 1979), ou une

élévation des niveaux d'angiotensine II 90 minutes après l'injection du diurétique (JESPERSEN *et al.*, 1990).

Afin d'évaluer si l'une ou l'autre de ces substances était impliquée dans les effets perméabilisants du furosémide, le bloqueur de la cyclo-oxygénase, l'indométacine est administré avant l'injection du diurétique 10 ou 60 minutes précédant le sacrifice, 10 minutes correspondant à l'élévation précoce de la perméabilité, qui coïncide avec le recrutement initial de fluide associé à l'augmentation de la diurèse, et 60 minutes représentant la seconde hausse de l'extravasation de BE facilitant possiblement l'équilibration de liquide entre les compartiments vasculaire et interstitiel. Tel que démontré plus haut, le furosémide augmente la perméabilité capillaire en 10 minutes par un mécanisme sensible à l'indométacine. Ces résultats sont confirmés pour l'injection de furosémide à 60 minutes avant le sacrifice des rats, indiquant qu'à ce moment, les métabolites de la cyclo-oxygénase sont impliqués dans la hausse de l'extravasation de BE. Ceci est en accord avec une autre étude démontrant qu'une protéinurie accrue engendrée suite à la perméabilisation glomérulaire par le furosémide, s'accompagnant d'une hausse de TxA_2 , PGE_2 et PGI_ω , est inhibée par l'indométacine (ALA-HOUHALA *et al.*, 1987). Par ailleurs, le prétraitement des rats avec l'antagoniste du thromboxane A_2 , le L-655,240, prévient également l'élévation de l'extravasation de BE induite par le furosémide à 10 et 60 minutes. Ainsi, l'augmentation de l'extravasation du BE induite par le furosémide se fait via une stimulation de la voie de la cyclo-oxygénase et une augmentation du TxA_2 . Ces résultats corroborent la démonstration par BERTOLINO *et al.* (1995) que l'activation du récepteur au TxA_2 provoque l'augmentation de la perméabilité microvasculaire dans plusieurs organes dont le coeur et le rein, mais contrairement aux résultats obtenus ici, pas

dans le muscle squelettique. L'étude démontrant que l'analogue du TxA₂, le U44069, induit la contraction des cellules endothéliales corrobore également les résultats obtenus (MOREL *et al.*, 1990). La diminution de l'extravasation ne dépend apparemment pas d'une réduction de la pression systémique, puisque ni l'indométacine ni le L-655,240 ajoutent à l'effet hypotenseur, mais non significatif, du furosémide. Justement, l'augmentation de l'extravasation d'albumine avec furosémide a été notée en absence d'effets du diurétique sur la pression artérielle (HENRIKSEN *et al.*, 1982).

La stimulation du système rénine angiotensine par la furosémide a été documentée à plusieurs reprises. Par exemple, une élévation de l'activité rénine plasmatique survient 10 à 15 minutes après l'administration du diurétique (ALA-HOUHALA *et al.*, 1987; JOHNSTON *et al.*, 1983; WEBER *et al.*, 1977). Alors qu'il y a certaines évidences que l'angiotensine II augmente la perméabilité capillaire (MOREL *et al.*, 1990; REDDY *et al.*, 1993), ce peptide provoque également la production de prostaglandines et de thromboxane dans des tissus rénaux et extrarénaux (GERKENS, 1987; JOHNSTON *et al.*, 1983). Parallèlement, une hausse de prostaglandines, tel que stimulée par le furosémide, mène à une élévation de l'activité rénine plasmatique (DATAR *et al.*, 1987; SAHLOUL *et al.*, 1990; WEBER *et al.*, 1977). Ainsi, afin d'établir si l'angiotensine II est impliquée dans l'extravasation accrue de BE suivant l'injection de furosémide, l'antagoniste du récepteur AT₁ de l'angiotensine, le L-158,809, est administré avant le diurétique. Les résultats démontrent que le prétraitement avec L-158,809 bloque la hausse de l'extravasation de BE par le furosémide, ce qui indique que le diurétique accroît la production d'angiotensine II, et que la perméabilité capillaire est altérée par la stimulation du récepteur AT₁.

Puisque l'indométacine abolit l'augmentation de la perméabilité capillaire induite par le furosémide, et puisque l'inhibition de la cyclo-oxygénase prévient la hausse de l'activité rénine plasmatique post-furosémide, (ALA-HOUHALA *et al.*, 1987; FAVRE *et al.*, 1983; JOHNSTON *et al.*, 1983; PASSMORE *et al.*, 1990; WEBER *et al.*, 1977), l'augmentation de la perméabilité capillaire suite à l'administration du diurétique pourrait être attribuée à l'élévation des prostaglandines, menant à une hausse de l'angiotensine II, qui agirait directement sur les cellules endothéliales pour induire l'extravasation de BE. De plus, quoique l'inhibition de la synthèse de TxA_2 bloque les effets presseurs de l'angiotensine II (LEVENS *et al.*, 1991), ceci n'est pas le cas pour l'antagoniste du récepteur du thromboxane (BERTOLINO *et al.*, 1994). Toutefois, la contraction de l'aorte de lapin et l'augmentation de la pression intralobulaire stimulés par un agoniste de thromboxane, le U-46619, ne sont pas inhibés par les antagonistes du récepteur AT_1 (DICKINSON *et al.*, 1994; CHENG *et al.*, 1994). L'angiotensine II dans le système vasculaire peut stimuler la production de PGI_2 , PGE_2 et TxA_2 (SCHROR, 1993), et il a été démontré récemment que ceci se produirait au niveau des cellules endothéliales (PUEYO *et al.*, 1996). Ainsi, il semble que l'injection du furosémide augmente la perméabilité capillaire par l'intermédiaire d'une hausse de la synthèse de l'angiotensine II. Ce peptide induit à son tour, par le biais du métabolisme de l'acide arachidonique, la synthèse du thromboxane A_2 , qui, agissant de façon autocrine ou paracrine, provoque la disjonction des cellules endothéliales et l'extravasation de BE.

2.4. Agents antihypertenseurs - administration chronique

Les résultats démontrent que plusieurs agents antihypertenseurs de différentes classes modifient sélectivement la perméabilité capillaire dans des organes variés lorsque administrés de façon chronique. De plus, des agents de la même classe ont des effets hétérogènes sur l'extravasation de BE, tel qu'observé avec l'administration aiguë des diurétiques. Il ne semble pas que les changements de la perméabilité capillaire résultent d'une modification de la pression artérielle, puisque les antihypertenseurs qui ont réduit la pression sanguine n'ont pas tous réduit la perméabilité capillaire, et certains agents qui ont diminué la pression n'en ont pas fait autant sur l'extravasation de BE.

2.4.1. Diurétiques

Contrairement à ce qui a été observé dans les études aiguës, l'administration chronique des diurétiques produit des réponses atténuées, impliquant probablement l'activation de mécanismes de compensation, en particulier le système rénine-angiotensine (BOCK et STEIN, 1988). Seule la cicléstanine a réduit l'extravasation de BE après son injection aiguë et son administration chronique, ce qui corrobore une étude antérieure démontrant un effet protecteur de ce diurétique sur la perméabilité capillaire de la microcirculation cutanée (CLOSTRE et ETIENNE, 1988). L'indapamide a également diminué l'extravasation de BE, dans quatre tissus, alors que le furosémide augmente la

perméabilité capillaire de la bronche et du pancréas. La pression artérielle n'est pas modifiée par le gavage à long terme avec les diurétiques.

L'administration chronique des diurétiques représente probablement une situation où le mécanisme d'action de ces agents sur la pression artérielle implique une réduction de la réactivité vasculaire (VAN BRUMMELEN *et al.*, 1980). Ainsi, les effets sur l'extravasation de BE à long terme pourraient être moins importants qu'en aigu parce que la contribution de l'augmentation de la perméabilité capillaire dans ce procédé serait négligeable. Par ailleurs, une activation à court terme de cascades hormonales pourrait être responsable de la discordance entre les effets aigus et chroniques des diurétiques. Par exemple, la cicléтанine induit une activation du système rénine-angiotensine une à deux heures suivant son administration, mais qui ne se retrouve pas après neuf jours de traitement avec le même produit (BIPPI et GUINOT, 1988). Les réponses divergeantes après l'administration aiguë ou chronique d'un diurétique donné pourraient également être dues aux différentes voies d'administration utilisées.

La modération des réponses de perméabilité capillaire au traitement diurétique chronique pourrait être reliée aux mécanismes par lesquels les diurétiques réduisent la réactivité vasculaire après la phase diurétique initiale. En fait, l'indapamide et la cicléтанine inhibent tous les deux les contractions induites par l'angiotensine II (AUGUET *et al.*, 1988; CAMPBELL et BRACKMAN, 1990; MALHERBE *et al.*, 1988) en plus d'augmenter la relâche de PGI_2 (CAMPBELL et BRACKMAN, 1990; UEHARA *et al.*, 1990). La cicléтанine inhibe également les contractions induites par la sérotonine, la norépinéphrine et la phényléphrine (AUGUET *et al.*, 1988; CASTRO *et al.*, 1989; MALHERBE *et al.*, 1988), alors que l'indapamide inhibe les contractions stimulées par

l'acétylcholine et la norépinéphrine (CAMPBELL et BRACKMAN, 1990; MIRONNEAU, 1988; PLANTE *et al.*, 1988). Ces deux diurétiques diminuent l'apport intracellulaire de calcium (MIRONNEAU, 1988; CALDER *et al.*, 1994). De plus, la cicléthane vasorelaxe l'artère mésentérique via un mécanisme impliquant la production d'oxyde nitrique (BUKOSKI *et al.*, 1993). L'amiloride diminue la réactivité par inhibition de l'entrée cellulaire de calcium, en bloquant l'échange Na^+/H^+ au niveau du muscle lisse vasculaire (CHATTERJEE *et al.*, 1988; DAVIES *et al.*, 1991; GARCIA *et al.*, 1990; LUCIANI *et al.*, 1992). Alors qu'il est connu que l'hydrochlorothiazide réduit le débit cardiaque (DAHLOF et HANSSON, 1993), les mécanismes d'action par lesquels ce diurétique réduit la résistance vasculaire demeurent incertains, quoiqu'il puisse inhiber l'entrée de calcium dans le muscle lisse vasculaire en bloquant le canal Na^+/Cl^- , comme il le fait sur l'épithélium tubulaire rénal (KELEPOURIS et AGUS, 1988). De même, il est possible que le furosémide bloque l'échangeur $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ dans le muscle lisse vasculaire (TIAN *et al.*, 1991), et réduise ainsi le transport de calcium (KELEPOURIS et AGUS, 1988). Ce diurétique atténue également la réactivité vasculaire en stimulant la production locale de prostacycline dans les artères de résistance (LUNDERGAN *et al.*, 1988; WEBER *et al.*, 1977), tout en réduisant la réponse pressive à l'angiotensine II et la norépinéphrine (COLOMBARI *et al.*, 1992).

L'angiotensine II, tel que démontré plus haut, peut être impliquée dans l'extravasation de BE. De même, il a été rapporté que la sérotonine augmente la perméabilité vasculaire (KEAHEY *et al.*, 1991), comme le font l'acétylcholine (GOLDIE et HELLSTRÖM, 1990), la phényléphrine (MAYHAN, 1991) et la norépinéphrine (ZHANG et ELLIS, 1990). Puisque les diurétiques atténuent la réactivité vasculaire à ces substances, ils en

réduisent peut-être également les effets perméabilisants. La relâche de PGI₂ induite par l'indapamide, la cicléstanine et le furosémide, de même que la stimulation de l'oxyde nitrique par la cicléstanine, pourraient également être responsables de la modération des effets sur la perméabilité vasculaire (BOXER *et al.*, 1980; DOUKAS *et al.*, 1989; GEE *et al.*, 1987). De plus, les divers canaux ioniques bloqués par les diurétiques, tels les échangeurs Na⁺/H et Na⁺/K⁺/Cl⁻, sont présents au niveau des cellules endothéliales (O'DONNELL, 1993). La diminution du Na⁺ intracellulaire dans ces cellules par les diurétiques pourrait donc y provoquer la sortie de calcium via l'échangeur Na⁺/Ca⁺² (LI et VAN BREEMEN, 1995). Le blocage de l'entrée intracellulaire de calcium inhibe la kinase des chaînes légères de la myosine et la protéine kinase C (CHATTERJEE *et al.*, 1988; DAVIES *et al.*, 1991), deux enzymes impliquées dans le processus de perméabilisation (GARCIA, 1992). Ainsi, ces effets variés des diurétiques pourraient être responsables de l'atténuation de l'extravasation de BE après leur administration chronique.

2.4.2. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

Une activation du système rénine-angiotensine a été associée aux changements de structure et de fonction vasculaires qui accompagnent l'hypertension, tel que l'athérothrombose (PINKNEY et YUDKIN, 1994) et le remodelage vasculaire (DZAU et GIBBONS, 1991). Ainsi, les effets microvasculaires de deux inhibiteurs de l'enzyme de conversion ont été évalués. Après dix jours de gavage avec captopril, l'extravasation de BE était diminuée dans le coeur et l'aorte abdominale, mais augmentée dans le muscle squelettique, alors que le périndopril a réduit la perméabilité de presque tous les tissus, à part le rein et la peau. Ces résultats confirment des études précédentes démontrant que les IEC inhibent l'élévation de la perméabilité induite par des agonistes inflammatoires lorsque administrés en prétraitement (FANTONE *et al.*, 1982), et qu'ils réduisent l'albuminurie chez des animaux et des patients diabétiques (BROWN *et al.*, 1993; CARTWRIGHT et JAENKE, 1988; CHAGNAC *et al.*, 1994; HULBERTS *et al.*, 1993). Par contre, exceptionnellement, les réductions de l'extravasation de BE sont observées ici chez des animaux n'ayant pas une perméabilité capillaire élevée.

Les différences obtenues avec des antihypertenseurs de la même classe et ayant le même impact sur la pression artérielle indiquent que le captopril et le périndopril pourraient agir sur la paroi vasculaire par des mécanismes distincts n'impliquant pas nécessairement l'angiotensine. En fait, en plus de réduire la synthèse d'angiotensine II, les IEC influencent différemment la production de prostaglandines (KIRSCHENBAUM et CHAUDHARI, 1988; SUNMAN et SEVER, 1993) et captent des radicaux libres oxygénés (KIRSCHENBAUM et CHAUDHARI, 1988). Ainsi, le captopril diminue la

production endothéliale de PGI_2 , contrairement à l'énalapril, un autre IEC, qui n'affecte pas la synthèse de cette prostaglandine (NAKAGAWA *et al.*, 1991). Le périndopril, de son côté, ne modifie pas les niveaux de TxA_2 ou de PGE_2 (ABDEL-HAQ *et al.*, 1991). Additionnellement, le captopril capte les radicaux libres, comme le font le lisinopril et le ramipril (GILLIS *et al.*, 1992), alors que l'énalapril ne semble pas y jouer un rôle important (MOLLACE *et al.*, 1991). En plus, le périndopril atténue la réponse vasoconstrictrice à la norépinéphrine et amplifie la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine (GOHLKE *et al.*, 1993). Il est toutefois intéressant de noter que les IEC diminuent l'extravasation de l'albumine malgré le fait qu'ils réduisent la dégradation de la bradykinine, un peptide perméabilisant (MAJNO *et al.*, 1967). Néanmoins, le fait que la bradykinine contribue uniquement à l'effet antihypertenseur aigu des IEC (SUNMAN et SEVER, 1993) pourrait indiquer que les effets de ce peptide, ou sa synthèse, sont atténués après 10 jours de gavage.

Les différences entre les deux IEC pourraient également résulter d'une action spécifique de ces agents sur la paroi vasculaire ou sur les protéases (gélatinases) interstitielles (SCHARPE *et al.*, 1991; SORBI *et al.*, 1993). De plus, l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine est variable dans différents tissus et avec différents IEC (JOHNSTON *et al.*, 1988; RICHER *et al.*, 1989). Ceci reflète des différences de biodisponibilité, de bioactivation, de propriétés de liaison de l'enzyme et de pénétration des drogues (JACKSON *et al.*, 1988). Par exemple, le captopril est plus lipophile et a un poids moléculaire plus bas que le périndopril (ONDETTI, 1988). Les segments actifs liant l'enzyme de conversion de ces deux agents sont également différents, le captopril agissant par le biais d'un groupement sulfhydryle, le périndopril par un

groupement carboxyle (ONDETTI, 1988). De plus, le périndopril est administré sous forme de prodrogue qui est ensuite désestérifié en sa forme active, alors que le captopril est actif en tant que tel (LAUBIE *et al.*, 1984). Ainsi, les différentes propriétés des deux IEC pourraient contribuer de façon non négligeable à leurs effets variables à long terme.

2.4.3. Antagonistes calciques

Les niveaux intracellulaires de calcium déterminent en grande partie l'intégrité et la perméabilité de la paroi endothéliale (SHASBY et SHASBY, 1986). En effet, la réduction de l'entrée calcique diminue l'activité de la kinase des chaînes légères de la myosine et de la protéine kinase C (CHATTERJEE *et al.*, 1988), deux enzymes qui contribuent au processus de perméabilisation (GARCIA, 1992). Ainsi, on pourrait s'attendre à ce que les antagonistes calciques réduisent la perméabilité capillaire en diminuant les contractions des cellules endothéliales, atténuant le stress au niveau des jonctions intercellulaires. Par contre, tel qu'observé avec les autres agents antihypertenseurs, les bloqueurs des canaux calciques induisent des réponses de perméabilité capillaire variées. La nifédipine est particulièrement puissante au niveau de la microcirculation, diminuant la perméabilité capillaire dans tous les tissus à part la peau, alors que le vérapamil augmente l'extravasation de BE dans la peau, mais la réduit dans le coeur et l'aorte abdominale. Finalement, non seulement le clentiazem ne réduit la perméabilité capillaire d'aucun tissu, mais il augmente l'extravasation plasmatique du pancréas et du muscle squelettique. Une sensibilité variable à la nifédipine, au vérapamil et au clentiazem dans différents territoires

vasculaires, confirmant les résultats obtenus, a été démontrée auparavant (MECCA et LOVE, 1992). Il est intéressant de noter que la nifédipine réduit la perméabilité capillaire de la plupart des tissus sans altérer la pression artérielle, alors que le clentiazem, qui a moins d'effet sur la microcirculation, diminue la pression sanguine significativement. Ceci démontre une disparité entre les effets locaux et systémiques de ces agents, et pourrait découler en partie du fait que la nifédipine est plus vasosélective que le vérapamil ou le clentiazem (MECCA et LOVE, 1992).

YAMADA *et al.* (1990) ont également constaté des effets contrastants de différents antagonistes calciques sur la perméabilité capillaire. Ils ont démontré que la nivaldipine, un bloqueur des canaux calciques de type dihydropyridine comme la nifédipine, réduit la perméabilité endothéliale de base, possiblement via une élévation d'AMPc intracellulaire, et a un effet protecteur plus important que le vérapamil ou le diltiazem, duquel le clentiazem est dérivé (SUZUKI *et al.*, 1991), contre l'insulte endothéliale aiguë. Il est également documenté que la nifédipine empêche l'extravasation d'albumine induite par des doses élevées d'histamine, alors que le vérapamil produit le même effet uniquement lorsque l'histamine est administrée à faible dose (MALO et WASSERMAN, 1986). Néanmoins, d'autres études révèlent que le vérapamil réduit l'élévation de la perméabilité stimulée par l'endothéline dans les cellules endothéliales (STANIMIROVIC *et al.*, 1993; TERENGHI *et al.*, 1991), alors que cet antagoniste calcique ne modifie pas l'extravasation d'albumine dans le foie de rats normaux mais l'élève chez des cirrhotiques, indépendamment d'un effet sur la pression ou le flot (REICHEN et LE, 1986).

Alors que la nifédipine, le vérapamil et le diltiazem bloquent l'influx calcique, la nifédipine induit en plus l'efflux du calcium des vaisseaux (CHURCH et ZSOTER, 1980),

ce qui pourrait réduire davantage le calcium intracellulaire essentiel pour la contraction du cytosquelette, et expliquer la réduction accrue de la perméabilité capillaire induite par cet agent. De plus, en dépit du fait que le clentiazem bloque les canaux calciques du muscle lisse vasculaire, il les active dans les cellules de la parathyroïde (CHEN et BROWN, 1990) et pourrait peut-être en faire autant sur les cellules endothéliales, favorisant ainsi la contraction du cytosquelette. Par contre, la présence de canaux de type L au niveau de l'endothélium demeure controversée. Certains démontrent que l'entrée de Ca^{+2} dans la cellule endothéliale se fait par le biais de canaux couplés aux récepteurs ou activés par l'étirement, mais pas dépendants du potentiel transmembranaire (HARRISON *et al.*, 1991; LASKEY *et al.*, 1991). Pourtant, le vérapamil inhibe les changements de forme des cellules endothéliales stimulés par le PAF, la sérotonine ou l'ionophore du calcium A23187 (NORTHOVER, 1992b). La nifédipine, le vérapamil et le diltiazem préviennent l'augmentation de Ca^{+2} intracellulaire stimulée par phorbol ester dans les cellules endothéliales (MURPHY *et al.*, 1994). De plus, les antagonistes calciques altèrent la fonction endothéliale, réduisent l'accumulation de lipides dans la paroi vasculaire et modifient la formation de protéines de la matrice extracellulaire (WEINSTEIN et HEIDER, 1989). Ces effets pourraient impliquer l'interaction des bloqueurs des canaux calciques avec différents types de protéines membranaires (récepteurs purinergiques, transporteurs de nucléosides, récepteurs benzothiazépine périphériques) qui stabiliserait l'intégrité membranaire des cellules (SCHMITZ *et al.*, 1991).

D'autres mécanismes d'action seraient peut-être impliqués dans les profils de perméabilité capillaire variables des antagonistes calciques, tel qu'une altération de la production (BJÖRKMAN *et al.*, 1991; FROHLICH *et al.*, 1992; GASPO *et al.*, 1992) ou

de la réponse vasculaire aux catécholamines (FORD *et al.*, 1991), ou une modification des taux circulants des prostaglandines (KIRSCHENBAUM *et al.*, 1991), des leukotriènes ou des ions superoxide (PAUL *et al.*, 1990). Par exemple, les oxydants induisent un changement de la morphologie cellulaire, associé à une altération marquée du cytosquelette d'actine et accompagné d'une hausse de la perméabilité capillaire (SHASBY et SHASBY, 1986). La peroxydation des lipides induit aussi des changements dans la fluidité et le caractère semi-perméable des membranes (KAUL *et al.*, 1993). La nifédipine est un antiperoxydant des lipides plus que deux fois plus puissant que le vérapamil ou le diltiazem (KAUL *et al.*, 1993). Finalement, il a été démontré que le clentiazem réduit le flot lymphatique pendant au moins huit heures suivant son injection intrapéritonale (LEVY *et al.*, 1992), ce qui pourrait réduire le taux de clairance d'albumine de l'espace extravasculaire suite à son extravasation.

2.5. Rats SHR - administration chronique d'agents antihypertenseurs

La figure illustrant la perméabilité capillaire basale chez le rat Wistar et spontanément hypertendu démontre bien que l'extravasation de BE est relativement élevée dans le second groupe. En principe, la souche référence recommandée du rat SHR est le rat Wistar-Kyoto. Par contre, le rat Wistar a servi de témoin puisque la perméabilité capillaire basale des organes du rat Wistar et du SHR est identique chez des animaux âgés de quatre semaines ou moins, au moment où la pression artérielle du SHR n'est pas plus élevée que celle du Wistar (résultats non montrés). Les résultats confirment des études antérieures, démontrant chez le SHR une augmentation du transport transendothélial d'albumine dans l'aorte, les vaisseaux de conductance et de résistance (WU *et al.*, 1990; YAMORI *et al.*, 1975). En fait, l'augmentation de la perméabilité capillaire aux protéines au niveau rénal précède le développement de la haute pression artérielle chez ces animaux (PLANTE *et al.*, 1992). Il se pourrait que ces augmentations de la perméabilité soient dues à la fois à l'accélération du transport vésiculaire dans les cellules endothéliales et à des modifications au niveau des jonctions de ces cellules (HAZAMA et SASAHARA, 1992; NAG, 1984). Chez le patient hypertendu, l'extravasation transcapillaire d'albumine est également accrue, ce qui peut conduire à une significative protéinurie (SHORE et TOOKE, 1994; PARVING et SMIDT, 1986). Puisque, chez le SHR, les dépôts lipidiques dans les artères mésentériques sont colocalisés avec les régions d'extravasation de peroxydase du raifort, il semble que l'augmentation locale de la perméabilité endothéliale soit à la fois cause et séquelle de ces dépôts (YAMORI *et al.*, 1975). Ainsi, un traitement antihypertenseur qui

réduirait la perméabilité capillaire du SHR aurait peut-être des effets bénéfiques additionnels, en plus de la réduction de la pression artérielle.

L'administration d'un diurétique se traduit, dans la plupart des cas, par une réduction de la perméabilité capillaire dans la majorité des tissus des SHR, malgré le maintien d'une pression artérielle élevée. Ainsi, les diminutions de l'extravasation du BE sont indépendantes d'un effet éventuel de ces produits sur la pression sanguine. Le furosémide, qui augmente la perméabilité capillaire de tous les tissus lorsqu'administré en injection aiguë, et de deux tissus lorsqu'administré par gavage chez le rat Wistar, est le diurétique qui provoque chez le SHR la diminution de l'extravasation de BE la plus marquée. En effet, cet agent réduit la perméabilité capillaire des tissus du SHR aux niveaux retrouvés chez le rat Wistar, et même, dans quelques tissus, au-dessous de ces niveaux. Par ailleurs, l'hydrochlorothiazide et la cicléstanine ont des effets comparables au furosémide dans presque tous les tissus, mais ne réduisent pas complètement l'extravasation de BE dans le rein. Ceci s'accorde avec des études chez des patients hypertendus, démontrant que le thiazide et le furosémide réduisent l'extravasation générale d'albumine et l'albuminurie (PARVING et SMIDT, 1986). Paradoxalement, l'indapamide a très peu d'effets sur la perméabilité capillaire du SHR, alors que chez le rat Wistar ce diurétique induit une diminution de l'extravasation de BE.

La peroxidation des lipides est plus importante chez le SHR que le rat Wistar (ITO *et al.*, 1993). Puisque les produits oxydants induisent une contraction endothéliale pouvant déformer les contours cellulaires (HINSHAW *et al.*, 1989), il se pourrait que l'extravasation accrue de BE observée chez le SHR résulte de ces changements. En plus, l'augmentation des métabolites réactifs de l'oxygène induit une relâche d'agents

pro-inflammatoires, contribuant à l'élévation de la perméabilité vasculaire et l'accumulation de liquide dans l'interstitium (JEROME *et al.*, 1994). Par contre, seule l'indapamide capte les radicaux libres et inhibe la peroxidation des lipides (BREUGNOT *et al.*, 1992; UEHARA *et al.*, 1993b) alors que le furosémide et l'hydrochlorothiazide ne semblent pas avoir d'effets comparables (BREUGNOT *et al.*, 1992). Dans le muscle lisse vasculaire, l'indapamide induit une élévation de la PGE₂ et la PGI₂, en partie due à la captation par le diurétique des radicaux libres qui dégradent ces prostaglandines (UEHARA *et al.*, 1990). De plus, l'indapamide inhibe les contractions endothélium-dépendantes à l'acétylcholine dans l'aorte du SHR (BOULANGER *et al.*, 1993). Ainsi, la neutralité relative de ce diurétique au niveau de la perméabilité capillaire s'explique difficilement par les effets décrits ici, mais implique probablement la stimulation de facteurs perméabilisants ou l'augmentation de l'affinité de leurs récepteurs, tel que démontré pour le peptide natriurétique de l'oreillette chez le SHR (OGURA *et al.*, 1994).

Par contre, la ciclétanine relaxe l'aorte de façon plus marquée chez le SHR que chez le rat Wistar, via une diminution du calcium intracellulaire (BUKOSKI *et al.*, 1989), et retarde l'apparition de l'hypertension chez le SHR (AUGUET *et al.*, 1988). Antioxydant, ce diurétique protège la fonction rénale chez le rat Dahl sensible au sel (UEHARA *et al.*, 1993a). La ciclétanine réduit également la contraction de l'aorte à la phényléphrine et à l'angiotensine II (AUGUET *et al.*, 1988), tout en augmentant les niveaux rénaux de PGE₂ et PGI₂ (DEBY *et al.*, 1989). Ces effets, ainsi que ceux énumérés plus haut dans la discussion des mécanismes d'actions possibles de l'administration chronique de la ciclétanine chez le rat Wistar, sont probablement impliqués dans la réduction de la perméabilité capillaire induite par ce diurétique. Il en est de même pour

l'hydrochlorothiazide et le furosémide qui, par le biais d'une modification de la synthèse de certains métabolites de l'acide arachidonique, ou par une réduction de la réponse cellulaire à des peptides vasoactifs, tel que décrit plus haut, atténuent l'extravasation des protéines chez le SHR.

Comme les agents diurétiques, les deux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ont des effets divergeants sur la perméabilité capillaire, alors qu'ils réduisent presque également la pression artérielle. Le périndopril réduit l'extravasation de BE dans tous les tissus chez le SHR, alors que le captopril réduit significativement ou rapporte la perméabilité capillaire aux niveaux retrouvés chez le rat Wistar uniquement dans deux organes, la bronche et le foie. Plusieurs études démontrent un effet protecteur des IEC via une diminution de la perméabilité. Ainsi, chez les patients diabétiques, l'énalapril réduit l'extravasation globale de l'albumine (CHAGNAC *et al.*, 1994). De façon similaire, le lisinopril réduit la protéinurie chez le chien diabétique (BROWN *et al.*, 1993). L'augmentation de la perméabilité de l'aorte est également réduite par un traitement d'une semaine avec l'énalapril (TEDGUI *et al.*, 1992), alors que le cilazapril, administré pendant deux semaines, réduit l'infiltration sousendothéliale de macrophages dans l'aorte du SHR (CLOZEL *et al.*, 1991). Par contre, le périndoprilat prévient le développement de l'albuminurie chez des rats diabétiques, mais ne réduit pas l'élévation de la clairance d'albumine tissulaire (HUIJBERTS *et al.*, 1993). L'effet protecteur des IEC pourrait impliquer, entre autres, un maintien des sites anioniques de la membrane basale au niveau des glomérules (CARTWRIGHT et JAENKE, 1988) et peut-être dans d'autres tissus. D'autres mécanismes jouant possiblement un rôle dans la diminution de l'extravasation de BE sont énumérés plus haut. Par contre, le captopril augmente les niveaux de PGE_2 et de

TxA₂ urinaires chez les patients hypertendus, et exacerbe l'oedème causé par la bradykinine, (SUNMAN et SEVER, 1993) ce qui pourrait expliquer sa neutralité relative vis-à-vis de la perméabilité capillaire élevée chez le SHR.

Encore une fois, les effets des trois antagonistes calciques sur l'extravasation de BE chez le SHR divergent. D'une part, la nifédipine et le clentiazem réduisent la perméabilité capillaire de la majorité des tissus du SHR aux niveaux notés chez le rat Wistar, corroborant l'observation d'une réduction par le clentiazem de l'albuminurie chez le chien diabétique, sans changement de la pression glomérulaire (BROWN *et al.*, 1993), et d'une diminution par autre antagoniste calcique, le fénflurazine, de l'extravasation de protéines dans un modèle d'hypertension aiguë (NAG, 1991). D'autre part, le vérapamil, qui diminue pourtant l'extravasation basale d'albumine chez le rat Wistar, et qui baisse la pression artérielle comme le font la nifédipine et le clentiazem, ne produit aucun effet chez le SHR. Ceci s'accorde avec une étude démontrant que le vérapamil ne modifie pas l'extravasation d'albumine dans le foie de rats normaux mais l'élève chez des cirrhotiques indépendamment d'un effet sur la pression ou le flot (REICHEN et LE, 1986). Néanmoins, le vérapamil inhibe l'augmentation de la perméabilité induite par l'histamine chez le SHR (MILLER et SIMS, 1986). Une peroxydation des lipides, tel que notée chez les patients hypertendus (KUMAR et DAS, 1993), pourrait être invoquée en tant que facteur produisant l'élévation de la perméabilité capillaire chez le SHR. Toutefois, comme pour les agents diurétiques, la protection contre les radicaux libres des antagonistes calciques, qui suit l'ordre de nifédipine plus puissant que vérapamil plus puissant que diltiazem (MAK *et al.*, 1992), n'explique pas complètement un effet protecteur ou neutre de ces agents. Ainsi, d'autres facteurs, soulignés dans la section précédente, jouent un

rôle important dans la modulation de l'extravasation de l'albumine par les bloqueurs des canaux calciques.

CONCLUSIONS

La validation du modèle d'études met en évidence, *in vivo*, différentes composantes du cytosquelette et de la matrice extracellulaire impliqués dans le maintien de la perméabilité capillaire, et permettant d'identifier leur rôle éventuel dans des conditions d'inflammation. Il semble donc que le transfert basal d'albumine du compartiment vasculaire vers l'interstitium a lieu principalement via des vésicules cytoplasmiques. Lors de l'activation de la réponse inflammatoire, du moins lorsqu'il y a une augmentation de PAF, d'autres mécanismes contribuent à l'extravasation d'albumine, notamment la disjonction des cellules endothéliales. Ainsi, dans la plupart des tissus, surtout ceux avec endothélium de type continu ou discontinu, le passage des macromolécules à travers la barrière vasculaire est régulée principalement par les cellules endothéliales, dont la conformation dépend grandement des microfilaments d'actine. Par contre, dans les tissus avec capillaires fenêtrés, la sélectivité de la paroi capillaire est rendue plus efficace par la présence de collagène, retrouvé principalement dans la membrane basale. De plus, le rôle des protéoglycans dans le maintien de la perméabilité de base dans les tissus de tous types n'est pas négligeable. Les éléments du cytosquelette et de la matrice extracellulaire qui déterminent la perméabilité capillaire se distinguent donc d'un tissu à l'autre, ce qui permet d'expliquer la variabilité de l'extravasation d'albumine basale et stimulée dans différents organes.

D'autre part, la deuxième série d'expériences démontre, pour une première fois, que certains agents antihypertenseurs utilisés fréquemment pour réduire la pression artérielle

chez les patients hypertendus influencent la perméabilité capillaire. L'hétérogénéité des actions microvasculaires de différentes substances pharmacologiques pourraient avoir différentes conséquences selon le site d'action au niveau vasculaire (artères de compliance ou artérioles de résistance) ou l'organe ciblé (MESSING *et al.*, 1991). Il reste à définir l'impact des changements de la perméabilité capillaire sur la redistribution des fluides, le trafic d'autacoïdes vasoactifs entre l'endothélium et le muscle lisse vasculaire, et sur le processus athérosclérotique. Par exemple, les sites d'extravasation vasculaire accrue de peroxidase de raifort chez le SHR correspondent aux lieux d'accumulation lipidique (YAMORI *et al.*, 1975). Par ailleurs, d'autres auteurs démontrent une corrélation entre le dommage au niveau gastrointestinal (BOUGHTON-SMITH *et al.*, 1992), neuronal (DIETRICH *et al.*, 1991) ou musculaire (STERNBERGH et ADELMAN, 1992) et une augmentation de la perméabilité locale, suggérant un effet néfaste d'une élévation de la perméabilité dans différents tissus. L'effet relativement neutre de certains agents antihypertenseurs sur l'extravasation d'albumine, et davantage leurs effets hypoperméabilisants chez le SHR, pourrait donc être considéré comme étant particulièrement avantageux en termes de protection vasculaire et tissulaire. Ainsi, le furosémide, le périndopril et la nifédipine seraient des antihypertenseurs de choix. Plusieurs études démontrent que l'incidence de l'athérosclérose, des maladies coronariennes et cérébrovasculaires chez les hypertendus n'est pas complètement normalisée par divers antihypertenseurs, malgré une réduction efficace de la pression sanguine (KRZESINSKI *et al.*, 1988). Il serait intéressant d'étudier l'impact des agents antihypertenseurs protecteurs, qui réduisent la perméabilité capillaire, sur l'incidence et la gravité de ces maladies, notamment chez le SHR stroke-prone. L'étude de l'effet de ces

agents sur le remodelage vasculaire, qui caractérise l'hypertension artérielle et qui implique de nombreux facteurs perméabilisants (DZAU et GIBBONS, 1993), serait également intéressante. Par ailleurs, la compréhension des mécanismes impliqués dans l'augmentation de l'extravasation d'albumine chez le SHR permettrait de mieux cibler la stratégie thérapeutique pouvant réduire les anomalies de la perméabilité capillaire dans l'hypertension. À long terme, la normalisation de la pression artérielle avec des agents antihypertenseurs ayant un effet protecteur additionnel au niveau de la microcirculation, devrait résulter en un arrêt, ou même une régression, des changements structuraux et fonctionnels dans les vaisseaux des patients hypertendus.

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier le Dr. Gérard E. Plante. Il a été pour moi une véritable source d'inspiration. Par sa motivation et son intérêt constants, il a su me transmettre sa passion de la recherche. Son expérience, sa confiance et ses encouragements constants ont été déterminants dans l'accomplissement de cette thèse. Dr. Plante est plus qu'un "patron" idéal, il est quelqu'un que j'affectionne réellement.

Il me fait également plaisir de remercier le Dr. Pierre Sirois. En plus de me laisser libre accès à ses laboratoires, il m'a montré une confiance hors du commun. Nos conversations fréquentes ont forgé du respect et de l'amitié.

J'aimerais aussi présenter mes remerciements aux étudiants, étudiantes et techniciennes du laboratoire. Je m'adresse particulièrement à Mouna Chakir, qui a été une amie précieuse pendant plusieurs années avec qui j'ai partagé une complicité inhabituelle. Merci à Marie Bergeron et à Angèle Tremblay, qui m'ont souvent prêté main forte.

Je remercie les étudiants et étudiantes du département de pharmacologie, qui ont contribué à ma formation et qui ont participé à la création d'une ambiance d'études riche et plaisante.

Je dois un gros merci à mes parents, qui m'ont supporté et encouragé pendant toutes mes années scolaires. Ils m'ont transmis leurs goûts des études et des voyages, et m'ont aidé dans toutes mes démarches.

J'exprime ma gratitude aux membres du jury de thèse qui ont accepté d'évaluer mes travaux de recherche. Le Dr. Domenico Regoli a toujours montré beaucoup d'intérêt pour mes expériences, il m'a souvent donné des judicieux conseils. Le Dr. Réjean Couture a également prêté attention à mes résultats au fil des ans, et ses commentaires ont été précieux. Je remercie le Dr. Villeneuve pour sa participation à la complétion de ma thèse.

Finalement, je remercie le Conseil de la Recherche Médicale du Canada pour son soutien financier pendant mes années au laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

- ABDEL-HAQ, B., MAGAGNA, A., FAVILLA, S. et SALVETTI, A. (1991)
Hemodynamic and humoral interactions between perindopril and indomethacin in
essential hypertensive subjects. J. Cardiovasc. Pharmacol. 18 (suppl. 7): S33-S36.
- ALA-HOUHALA, I., VAPAATALO, H. et PASTERNAK, A. (1987) Intravenously
administered frusemide increases glomerular permeability. Clin. Sci. 73: 365-370.
- ALEXANDER, J.S., HECHEMAN, H.B. et SHEPRO, D. (1988) Phalloidine enhances
endothelial barrier function and reduces inflammatory permeability in vitro.
Microvasc. Res. 35: 308-315.
- ALEXANDER, J.S., PATTON, W.F., YOON, M.U. et SHEPRO, D. (1991) Cytokeratin
filament modulation in pulmonary microvessel endothelial cells by vasoactive agents
and culture confluency. Tissue Cell. 23: 141-150.
- ANDERSON, R.G.W. Cell surface structure and the function of endothelial cells. Dans
C.J. Schwartz, N.T. Werthessen et S. Wolf (Eds): Structure and function of the
circulation. Plenum Press, N.Y. (1981) p. 239-286.
- ATTALAH, A.A. (1979) Interaction of prostaglandins with diuretics. Prostaglandins 18:
369-375.

- AUGUET, M., GUILLON, J.M., DELAFLOTTE, S., LE HAGARAT, M., PIROTZKY, E., CLOSTRE, F. et BRAQUET, P.(1988) In vivo and in vitro effects of cicletanine in spontaneously hypertensive rats. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 14: 89-95.
- BENT-HANSEN, L. (1989) Initial plasma disappearance and distribution volume of [¹³¹I]albumin and [¹²⁵I]fibrinogen in man. *Acta Physiol. Scand.* 136: 455-461.
- BERNER, M.E., TEAGUE, W.A. JR, SCHEERER, R.G. et BLAND, R.D. (1989) Furosemide reduces lung fluid filtration in lambs with lung microvascular injury from air emboli. *J. Appl. Physiol.* 67: 1990-1996.
- BERTOLINO, F., VALENTIN, J-P., MAFFRE, M., BESSAC, A-M. et JOHN, G.W. (1995) TxA₂ receptor activation elicits organ-specific increases in microvascular permeability in the rat. *Am. J. Physiol.* 268: R366-R374.
- BERTOLINO, F., VALENTIN, J-P., MAFFRE, M., JOVER, B., BESSAC, A.M. et JOHN, G.W. (1994). Prevention of thromboxane A₂ receptor-mediated pulmonary hypertension by a nonpeptide angiotensin II type 1 receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 268: 747-752.
- BIPPI, H. ET GUINOT, P. (1988) Study of the effects of cicletanine on the renin-angiotensin-aldosterone system. *Drugs. Exp. Clin. Res.* 14: 215-220.
- BJÖRKMAN, J.-A., EK, L., GUSTAFSSON, D., LJUNG, B. et NORDLANDER, M. (1991) Acute haemodynamic effects of felodipine, verapamil and hydralazine in the anaesthetized dog. *Pharmacol. Toxicol.* 68: 310-315.

- BLOSE, S.H. et CHACKO, S. (1976) Rings of intermediate (100Å) filament bundles in the perinuclear region of vascular endothelial cells. Their mobilisation by colcemid and mitosis. *J. Cell. Biol.* 70: 459-466.
- BOCK, H.A. et STEIN, J.H. (1988) Diuretics and the control of extracellular fluid volume: role of counterregulation. *Sem. Nephrol.* 8: 264-272.
- BOUGHTON-SMITH, N.K., DEAKIN, A.M. et WHITTLE B.J. (1992) Actions of nitric oxide on the acute gastrointestinal damage induced by PAF in the rat. *Agents Actions (suppl.)*: C3-C9.
- BOULANGER, C.M., MOMBOULI, J.V. et VANHOUTTE. P.M. (1993) Indapamide inhibits endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Fundam. Clin. Phar.* 7: 443-448.
- BOXER, L.A., ALLEN, J.M., SCHMIDT, M., YODER, M. et BAEHNER, R.L. (1980) Inhibition of polymorphonuclear leukocyte adherence by prostacyclin. *J. Lab. Clin. Med.* 95: 672-678.
- BREUGNOT, C., ILIOU, J.P., PRIVAT, S., ROBIN, F., VILAINE, J.P. et LENAERS, A. (1992) In vitro and ex vivo inhibition of the modification of low-density lipoprotein by indapamide. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20: 340-347.
- BROWN, S.A., WALTON, C.L., CRAWFORD, P. et BAKRIS, G.L. (1993) Long-term effects of antihypertensive regimens on renal hemodynamics and proteinuria. *Lab. Invest.* 43: 1210-1218.

- BUKOSKI, R.D., BO, J., XUE, H. et BIAN, K. (1993) Antiproliferative and endothelium-dependent vasodilator properties of 1,3-dihydro-3-p-chlorophenyl-7-hydroxy-6-methyl-furo-(3,4c) pyridine hydrochloride (cicletanine). *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 265: 30-35.
- BUKOSKI, R.D., WAGMAN, D.W., DE WAN, P. et XUE, H. (1989) Vascular actions of cicletanine. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 82(suppl. 4): 45-50.
- CALDER, J.A., SCHACHTER, M. et SEVER, P.S. (1994) Vasorelaxant actions of 5-OH-indapamide, a major metabolite of indapamide: comparison with indapamide, hydrochlorothiazide and cicletanine. *Eur. J. Pharmacol.* 256: 185-191.
- CAMPBELL, D.B. et BRACKMAN, F. (1990) Cardiovascular protective properties of indapamide. *Am. J. Cardiol.* 65: 11H-27H.
- CARTWRIGHT, M.E. et JAENKE, R.S. (1988) Effects of dietary protein and captopril on glomerular permselectivity in rats with unilateral nephrectomy. *Lab. Invest.* 59: 492-499.
- CASTRO, A., PARRA, L., ALSASUA, A. et FUENTES, J.A. (1990) The antihypertensive agent cicletanine reverses vascular hyperreactivity to noradrenalin and cardiac hypertrophy in DOCA-salt rats. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 307: 109-118.
- CASTRO, A., PARRA, L. et FUENTES, J.A. (1989) Studies on the mechanism of action of the antihypertensive agent cicletanine. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 82: 51-54.

- CHAGNAC, A., KORZETS, A., ZEVIN, D., WENDER, T., CARMON, G., HIRSH, J., GAFTER, U. et LEVI, J. (1994) Effect of enalapril on the microvascular albumin leakage in patients with diabetic microangiopathy and normal or mildly elevated blood pressure. *Clin. Nephrol.* 41: 144-149.
- CHATTERJEE, M., CHIU, P.J.S., DOLL, R.J. et SYBERTZ, E.J. (1988) Effect of amiloride on regulatory mechanisms of vascular smooth muscle contraction. *Biochem. Pharmacol.* 37: 813-818.
- CHEN, C.J. et BROWN, E.M. (1990) The diltiazem analogue TA-3090 mimics the actions of high extracellular Ca^{2+} on parathyroid function in dispersed bovine parathyroid cells. *J. Bone Mineral Res.* 5: 581-587.
- CHEN, T.B., LOTTI, V.J. et CHANG, R.S. (1992) Characterization and the binding of [^3H]L-158,809: a new potent and selective nonpeptide angiotensin II receptor (AT1) antagonist radioligand. *Molec. Pharmacol.* 42: 1077-1082.
- CHENG, D.Y., DEWITT, B.J., MCMAHON, T.J. et KADOWITZ, P.J. (1994) Comparison of pressor responses to angiotensin I, II and III in pulmonary vascular bed of cats. *Am. J. Physiol.* 266: H2247-H2255.
- CHRY SANT, S.G., GANOUSIS, L. et CHRY SANT, C. (1988) Hemodynamic and metabolic effects of hypermagnesemia in spontaneously hypertensive rats. *Cardiology* 75: 81-89.
- CHURCH, J. et ZSOTER, T.T. (1980) Calcium antagonistic drugs. Mechanisms of action. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 58: 254-264.

- CIRINO, M., MACDONALD, C., HADDEN, J. et FORD-HUTCHINSON, A.W. (1990) Thromboxane A₂ and prostaglandin endoperoxide analogue effects on porcine renal blood flow. *Am. J. Physiol.* 258: F109-F114.
- CLOSTRE, F. et ETIENNE, A. (1988) General pharmacology of cicletanine. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 14: 73-82.
- CLOUGH, G. (1991) Relationship between microvascular permeability and ultrastructure. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 55: 47-69.
- CLOZEL, M., KUHN, H., HEFTI, F. et BAUMGARTNER, H.R. (1991) Endothelial dysfunction and subendothelial monocyte macrophages in hypertension. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition. *Hypertens.* 18: 132-141.
- COLOMBARI, D.S., COLOMBARI, E., SAAD, W.A., CAMARGO, L.A., RENZI, A., DE LUCA, L.A. JR. et MENANI, J.V. (1992) Effect of furosemide treatment on the central and peripheral pressor responses to cholinergic and adrenergic agonists, angiotensin II, hypertonic solution and vasopressin. *Neurosci. Letters* 143: 255-258.
- COOKE, P.H. et POISNER, A.M. (1979) The role of the cytoskeleton in adrenomedullary secretion. *Meth. Archiv. Exp. Pathol.* 9: 137-146.
- COOPER, J.A. (1987) Effects of cytochalasin and phalloidine on actin. *J. Cell. Biol.* 105: 1473-1478.

- CONWAY, J. et LAUWERS, P. (1960) Hemodynamic and hypotensive effects of long-term therapy with chlorothiazide. *Circulation* 21: 21-27.
- COUSINEAU, D.F., GORESKEY, C.A., ROSE, C.P., SIMARD, A. et SCHWAB, A.J. (1995) Effects of flow, perfusion pressure, and oxygen consumption on cardiac capillary exchange. *J. Appl. Physiol.* 78: 1350-1359.
- DAHLÉN, S.E., BJÖRK, J., HEDQVIST, P., ARFORS, K.E., HAMMARSTRÖM, S., LINDGREN, J.A. et SAMUELSSON, B. (1981) Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: in vivo effects with relevance to the acute inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 3887-3891.
- DAHLOF, B. et HANSSON, L. (1993) The influence of antihypertensive therapy on the structural arteriolar changes in essential hypertension: different effects of enalapril and hydrochlorothiazide. *J. Int. Med.* 234: 271-279.
- DATA, J.L., RANE, A., GERKENS, J., WILKINSON, G.R., NIES, A.S. et BRANCH, R.A. (1978) The influence of indomethacin on the pharmacokinetics, diuretic response and hemodynamics of furosemide in the dog. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 206: 431-438.
- DATAR, S., MCCAULEY, F.A. et WILSON, T.W. (1987) Effect of cyclooxygenase and thromboxane synthetase inhibition on furosemide-stimulated plasma renin activity. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 65: 80-83.

- DAVIDOV, M., GAVRILOVICH, L., MROCZEK, W. et FINNERTY JR, F.A. (1969)
Relation of extracellular fluid volume to arterial pressure during drug-induced
saluresis. *Circulation* 40: 349-355.
- DAVIES, J.E., NG, L.L., AMEEN, M., SYME, P.D. et ARONSON, J.K. (1991)
Evidence for altered Na^+/H^+ antiport activity in cultured skeletal muscle cells and
vascular smooth muscle cells from the spontaneously hypertensive rat. *Clin. Sci.* 80:
509-516.
- DEBY, C., DEBY-DUPONT, G., DROY-LEFAIX, M.T., BOSQUET, D., BERTHET,
P. et BAKRI, F. (1989) Effets du traitement par la ciclétanine sur la PGE_2 et la PGI_2
rénales chez les rats spontanément hypertendus. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 82(suppl.
4): 37-40.
- DELBARRE, B., DELBARRE, G. et FERGER, A. (1990) Rôle des prostaglandines dans
le mécanisme d'action de l'indapamide. *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* 83: 1209-1212,
- DEQUATTRO, V. et MIURA, Y. Neurogenic factors in human hypertension: mechanism
or myth? Dans J.H. Laragh (Ed): *Hypertension Manual*. Yorke Med., N.Y. (1974) p.
227-311.
- DETWEILER, D.K. L'hypertension, le choc et l'insuffisance cardiaque congestive. Dans
D.K. Detweiler (Ed): *Physiologie cardiovasculaire*. Masson, Paris (1980) p. 262-292.
- DIAMOND, J.R. et KARNOVSKY, M.J. (1986) Focal and segmental glomerulosclerosis
following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am. J. Pathol.*
122: 481-487.

- DICKINSON, K.E., COHEN, R.B., SKWISH, S., DELANEY, C.L., SERAFINO, R.P., POSS, M.A., GU, Z., RYONO, D.E., MORELAND, S. et POWELL, J.R. (1994) BMS-180560, an insurmountable inhibitor of angiotensin II-stimulated responses: comparison with losartan and EXP3174. *Br. J. Pharmacol.* 113: 179-189.
- DIETER, P., SCHULZE-SPECKING, A., KARCK, U. et DECKER, K. (1987) Prostaglandin release but not superoxide production by rat Kupffer cells stimulated in vitro depends on Na^+/H^+ exchange. *Eur. J. Biochem.* 170: 201-206.
- DIETRICH, W.D., HALLEY, M., VALDES, I. et BUSTO, R. (1991) Interrelationships between increased vascular permeability and acute neuronal damage following temperature-controlled brain ischemia in rats. *Acta Neuropathol.* 81: 615-625.
- DIKSHIT, K., VYDEN, J.K., FORRESTER, S.B., CHATTERJEE, K., PRAKASH, R. et SWAN, H.J.C. (1973) Renal and extrarenal hemodynamic effects of furosemide in congestive heart failure after acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 288: 1087-1090.
- DODGE, A.B., PATTON, W.F., YOON, M.U., HECHTMAN, H.B. et SHEPRO, D. (1991) Organ and species specific differences in cytoskeletal protein profiles of cultured microvascular endothelial cells. *Comp. Biochem. Physiol. B* 98: 461-470.
- DOUKAS, J., HECHTMAN, H.B. et SHEPRO, D. (1989) Vasoactive amines and eicosanoids interactively regulate both polymorphonuclear leukocyte diapedesis and albumin permeability in vitro. *Microvasc. Res.* 37: 125-137.

- DRENCKHAHN, D. (1983) Cell motility and cytoplasmic filaments in vascular endothelium. *Prog. Appl. Microcirc.* 1: 53-70.
- DZAU V.J. et GIBBONS, G.H. (1993) Vascular remodeling: mechanisms and implications. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 21(suppl. 1): S1-S5.
- DZAU, V.J. et GIBBONS, G.H. (1991) Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. *Hypertens.* 18(suppl. III): III115-III121.
- DZAU, V.J., NAFTILAN, A.J. ET HOUSTON, M.C. Hypertension: evaluation and management. Dans J. Loscalzo, M.A. Creager, et V.J. Dzau (Eds): *Vascular medicine*. Little, Brown and Company, Boston (1992) p. 595-620.
- EHRHART, I.C., MCCLOUD, L.L., ORFANOS, S.E., CATRAVAS, J.D. et HOFMAN, W.F. (1994) Effect of high blood flow on pulmonary vascular permeability to protein. *J. Appl. Physiol.* 76: 2342-2347.
- ELLISON, D.H. (1994) Diuretic drugs and the treatment of edema: from clinic to bench and back again. *Am. J. Kidney Dis.* 23: 623-643.
- ELLISON, D.H. (1991) The physiological basis of diuretic synergism: its role in treating diuretic resistance. *Ann. Int. Med.* 114: 886-894.
- ERCAN, Z.S., SINDEL, S. et TURKER, R. (1991) Possible thromboxane A₂ mediated effect of angiotensin II in the rabbit isolated perfused kidney. *Arch. Int. Physiol. Biochem. Biophys.* 99: 397-400.

- ESUNGE, P.M. (1991) From blood pressure to hypertension: the history of research. *J. Royal Soc. Med.* 84: 621.
- EZZELL, R.M., TONER, M., HENDRICKS, K., DUNN, J.C.Y., TOMPKINS, R.G. et YARMUSH, M.L. (1993) Effect of collagen gel configuration on the cytoskeleton in cultures rat hepatocytes. *Exp. Cell Res.* 208: 442-452.
- FANTONE, J.C., SCHRIER, D. et WEINGARTEN, B. (1982) Inhibition of vascular permeability changes in rats by captopril. *J. Clin. Invest.* 69: 1207-1211.
- FAVRE, L., GLASSON, P.H., RIONDEL, A. et VALLOTTON, M.B. (1983) Interaction of diuretics and non-steroidal anti-inflammatory drugs in man. *Clin. Sci.* 64: 407-415.
- FORD, G.A., KATZIR, D., BLASCHKE, T.F. et HOFFMAN, B.B. (1991) Responsiveness of peripheral veins to vasodilators and the effect of nifedipine on α -adrenergic responsiveness in hypertension. *Clin. Pharmacol. Therap.* 50: 192-198.
- FREIS, E.D. Origins and development of antihypertensive treatment. Dans J.H. Laragh et B.M. Brenner (Eds): *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. Raven Press, N.Y. (1990) p. 2093-2094.
- FROHLICH, E.D., MCLOUGHLIN, M. et KETELHUT, R. (1992) Hemodynamic and metabolic effects of intravenous clentiazem in hypertensive patients. *Am. J. Cardiol.* 69: 229-232.

- FRØKJÆR-JENSEN, J. (1980) Three dimensional organization of plasmalemmal vesicles in endothelial cells. An analysis by serial sectioning of frog mesenteric capillaries. *J. Ultrastruct. Res.* 73: 9-20.
- GARCIA, J.G.N. (1992) Postulated mechanisms of endothelial cell permeability. *J. Lab. Clin. Med.* 120: 662.
- GARCIA, M.L., KING, F., SHEVELL, J.L., SLAUGHTER, R.S., SUAREZ-KURTZ, G., WINQUIST, R.J. et KACZOROWSKI, G.J. (1990) Amiloride analogs inhibit L-type calcium channels and display calcium entry blocker activity. *J. Biol. Chem.* 265: 3763-3771.
- GASPO, R., LAMARCHE, L., YAMAGUCHI, N. et DE CHAMPLAIN, J. (1992) Effects of clentiazem (TA-3090) and nifedipine on basal circulating catecholamine levels and on stimulation-evoked adrenal catecholamine secretion in anesthetized dogs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 70: 983-989.
- GEE, M.H., TAHAMOUNT, M.V., FLYNN, T., COX, J.W., PULLEN, R.H. et ANDREADIS, N.A. (1987) Prostaglandin E₁ prevents increased lung microvascular permeability during intravascular complement activation in sheep. *Circ. Res.* 61: 420-428.
- GERKENS, J.F. (1987) Does furosemide have vasodilator activity? *Trends Pharmacol. Sci.* 8: 254-257.

- GILLIS, C.N., CHEN, X. et MERKER, M.M. (1992) Lisinopril and ramiprilat protection of the vascular endothelium against the free radical-induced functional injury. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 262: 212-216.
- GOHLKE, P., LAMBERTY, V., KUWER, I., BARTENBACH, S., SCHNELL, A. et UNGER, T. (1993) Vascular remodeling in systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.* 71: 2E-7E.
- GOLDBLATT, H. (1958) Experimental renal hypertension. Mechanism of production and maintenance. *Circulation* 17: 642-647.
- GOLDIE, P. et HELLSTRÖM, S. (1990) Identification and characterization of middle ear vascular leakage sites in experimental otitis media. *Ann. Oto. Rhino. Laryngo.* 99: 810-816.
- GOTTLIEB, A.I., LANGILLE, B.L., WONG, M.K. et KIM, D.W. (1991) Structure and function of the endothelial cytoskeleton. *Lab. Invest.* 65: 123-137.
- GROGGER, G.C., STEVENSON, J., HOVINGH, P., LINKER, A. et BORDER, W.A. (1988) Changes in heparan sulfate correlate with increased glomerular permeability. *Kidney. Int.* 33: 517-523.
- GURETZKI, H.J., SCHLEICHER, E., GERBITZ, K.D. ET OLGEMOLLER, B. (1994) Heparin induces endothelial extracellular matrix alterations and barrier dysfunction. *Am. J. Physiol.* 267: C946-C954.

- HAMMERSEN, F., HAMMERSEN, E. et OSTERKAMP-BAUST, U. (1983) Structure and fonction of the endothelial cell. *Prog. Appl. Microcirc.* 1: 1-16.
- HANSEN, J. (1968) Hydrochlorothiazide in the treatment of hypertension. The effects of blood volume, exchangeable sodium and blood pressure. *Acta. Med. Scand.* 183: 317-321.
- HARRISON, D.G., TREASURE, C.B., MUGGE, A., DELLSPERGER, K.C. et LAMPING, K.G. (1991) Hypertension and the coronary circulation. With special attention to endothelial regulation. *Am. J. Hypertens.* 4: 454S-459S.
- HAZAMA, F. et SASAHARA, M. Changes in arterial endothelial cells in chronic hypertension with special reference to regressive changes and replication. Dans N. Simionescu et M. Simionescu (Eds): *Endothelial cell dysfunctions*. Plenum Press, N.Y. (1992) p. 269-282.
- HE, Q. et SPIRO, M.J. (1995) Isolation of rat heart endothelial cells and pericytes: evaluation of their role in the formation of extracellular matrix components. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 27: 1173-1183.
- HEAD, G. A. (1992) Central monoamine neurons and cardiovascular control. *Kidney Int.* 41(suppl. 37): S8-S13.
- HEBERT, R.L., SIROIS, P., BRAQUET, P. et PLANTE, G.E. (1987) Hemodynamic effects of PAF-acether on the dog kidney. *Prostaglandins Leukot. Med.* 26: 189-202.

- HEINTZ, B., STÖCKER, G., MROWKA, C., RENTZ, U., MELZER, H., STICKELER, E., SIEBERTH, H-G., GREILING, H. ET HANBECK, H-D. (1995) Decreased glomerular basement membrane heparan sulfate proteoglycan in essential hypertension. *Hypertens.* 25: 399-407.
- HENDRY, B.M. et ELLORY, J.C. (1988) Molecular sites for diuretic action. *Trends Pharmacol. Sci.* 9: 416-421.
- HENRIKSEN, J.H., PARVING, H-H., LASSEN, N.A. et WINKLER, K. (1982) Increased transvascular escape rate and lymph drainage of albumin in pigs during intravenous diuretic medication. Relations to treatment in man and transport mechanisms. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 42: 423-429.
- HINSHAW, D.B., BURGER, J.M., ARMSTRONG, B.C. et HYSLOP, P.A. (1989) Mechanism of endothelial cell shape change in oxidant injury. *J. Surg. Res.* 46: 339-349.
- HOEK, J.B. (1992) Intracellular signal transduction and the control of endothelial permeability. *Lab. Invest.* 67: 1-4.
- HOOPER, N.M., HRYSZKO, J., OPPONG, S.Y. et TURNER, A.J. (1992) Inhibition by converting enzyme inhibitors of pig kidney aminopeptidase P. *Hypertens.* 19: 281-285.
- HOWARD, M.J., MULLEN, M.D. et INSELM P.A. (1987) Amiloride interacts with renal α - and β -adrenergic receptors. *Am. J. Physiol.* 253: F21-F25.

- HUIJBERTS, M., WOLFFENBUTTEL, B., CRIJNS, F., NIEUWENHUIJZEN KRUSEMAN, A., BEMELMANS, M., VAN ESSEN, H., SMITS, J. et STRUIJKER BOUDIER, H. (1993) Inhibition of angiotensin-converting enzyme reduces urinary albumin excretion but not regional albumin clearance in experimental diabetes. *Eur. J. Pharmacol.* 240: 207-212.
- HÜTTNER, I., BOUTET, M., RONA, G. et MORE, R.H. (1973) Studies on protein passage through arterial endothelium III. The effects of blood pressure levels on the passage of fine structural protein tracers through rats arterial endothelium. *Lab. Invest.* 29: 536-546.
- ITO, H., TORII, M. et SUZUKI, T. (1993) A comparative study on lipid peroxidation in cerebral cortex of stroke-prone spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Int. J. Biochem.* 25: 1801-1805.
- JACKSON, B., CUBELA, R.B. et JOHNSTON, C.I. (1988) Inhibition of tissue angiotensin converting enzyme by perindopril: in vivo assessment in the rat using radioinhibitor binding displacement. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 245: 950-955.
- JAMES, M.F., CORK, R.C., HARLEN, G.M. et WHITE, J.F. (1988) Interactions of adrenaline and magnesium on the cardiovascular system of the baboon. *Magnesium* 7: 37-43.
- JEROME, S.N., KONG, L. et KORTHUIS, R.J. (1994) Microvascular dysfunction in postischemic skeletal muscle. *J. Invest. Surg.* 7: 3-16.

- JESPERSEN, B., DANIELSEN, H. et PEDERSEN, E.B. (1990) Atrial natriuretic peptide and blood volume in patients with chronic glomerulonephritis: effects of albumin and frusemide administration. *Nephrol. Dial. Transplant.* 5: 997-1006.
- JOHNSTON, C.I., MENDELSON, F.A., CUBELA, R.B., JACKSON, B., KOHZUKI, M. et FABRIS, B. (1988) Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) in plasma and tissues: studies ex vivo after administration of ACE inhibitors. *J. Hypertens.* 6: S17-S22.
- JOHNSTON, G.D., HIATT, W.R., NIES, A.S., PAYNE, N.A., MURPHY, R.C. et GERBER, J.G. (1983) Factors modifying the early nondiuretic vascular effects of furosemide in man. *Circ. Res.* 53: 630-635.
- JOLES, J.A., RABELINK, T.J., BRAAM, B. et KOOMANS, H.A. (1993) Plasma volume regulation: defences against edema formation (with special emphasis on hypoproteinemia). *Am. J. Nephrol.* 13: 399-412.
- KAUL, N., SIVESKI-ILISKOVIC, N., HILL, M., SLEZAK, J. et SINGAL, P.K. (1993) Free radicals and the heart. *J. Pharmacol. Toxicol. Meth.* 30: 55-67.
- KEAHEY, T.M., INDRISANO, J., WHITE, M.V. et KALINER, M.A. (1991) Analysis of microvascular permeability in response to mediators of immediate hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87: 586-594.
- KELEPOURIS, E. et AGUS, Z.S. (1988) Effects of diuretics on calcium and phosphate transport. *Sem. Nephrol.* 8: 273-281.

- KIRCHNER, K.A., BRANDON, S., MUELLER, R.A., SMITH, M.J. et BOWER, J.D. (1987) Mechanisms of attenuated hydrochlorothiazide response during indomethacin administration. *Kidney Int.* 31: 1097-1103.
- KIRSCHENBAUM, M.A. et CHAUDHARI, A. (1988) Lack of effect of captopril on preglomerular renal microvascular prostanoid biosynthesis. *Eur. J. Pharmacol.* 148: 335-341.
- KIRSCHENBAUM, M.A., ROH, D.D. et KAMANNA, V.S. (1991) Effect of nifedipine on renal microvascular cholesterol accumulation and prostacyclin biosynthesis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 91: 241-246.
- KORTHUIS, R.J., CARDEN, D.L., KVIETYS, P.R., SHEPRO, D. et FUSELER, J. (1991) Phalloidine attenuates postischemic neutrophil infiltration and increased microvascular permeability. *J. Appl. Physiol.* 71: 1261-1269.
- KRZESINSKI, J.-M., CARLIER, P.G. et RORIVE, G.L. (1988) Interrelationship of hypertension, plasma lipids and atherosclerosis. *Drugs* 36(suppl. 2): 18-26.
- KUBOTA, I., FUKUHARA, T. et KINOSHITA, M. (1990) Permeability of small coronary arteries and myocardial injury in hypertensive diabetic rats. *Int. J. Cardiol.* 29: 349-355.
- KUMAR, K.V. et DAS, U.N. (1993) Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension? *Free Radical Res. Commun.* 19: 59-66.

- KUROSE, I., MIURA, S., FUKUMURA, D. et TSUCHIYA, M. (1993) Mechanisms of endothelin-induced macromolecular leakage in microvascular beds of rat mesentery. *Eur. J. Pharmacol.* 250: 85-94.
- LAINE, G.A. (1988) Microvascular changes in the heart during chronic arterial hypertension. *Circ. Res.* 62: 953-960.
- LAINE, G.A. et ALLEN, S.J. (1991) Left ventricular myocardial edema. Lymph flow, interstitial fibrosis, and cardiac function. *Circ. Res.* 68: 1713-1721.
- LAMPUGNANI, M.G., RESNATI, M., DEJANA, E. et MARCHISO, P.C. (1991) The role of integrins in the maintenance of endothelial monolayer integrity. *J. Cell. Biol.* 112: 479-490.
- LANG, J.A., SINCLAIR, N.L., BURSON, J.M. et SIGMUND, C.D. (1994) Transgenic animals as tools in hypertension research. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 205: 106-118.
- LASKEY, R.E., ADAMS, D.J., PURKERSON, S. et VAN BREEMAN, C. (1991) Cytosolic calcium ion regulation in cultured endothelial cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 304: 257-271.
- LAUBIE, M., SCHIAVI, P., VINCENT, M. et SCHMITT, H. (1984) Inhibition of angiotensin I-converting enzyme with S 9490: biochemical effects, interspecies differences, and role of sodium diet in hemodynamic effects. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 6: 1076-1082.

- LEGRAND, Y.J. et DROUET, L.O. Hémostase et paroi artérielle. Dans J-P. Camilleri, C.L. Berry, J-N. Fiessinger et J. Bariéty (Eds): Les maladies de la paroi artérielle. Flammarion, Paris (1987) p.106-122.
- LETH, A. (1970) Changes in plasma and extracellular fluid volumes in patients with essential hypertension during long-term treatment with hydrochlorothiazide. *Circulation* 42: 479-485.
- LEVEEN, H.H. et FISHMAN, W.H. (1947) Combination of Evans blue with plasma protein: its significance in capillary permeability studies, blood dye disappearance curves, and its use as a protein tag. *Am. J. Physiol.* 151: 26-33.
- LEVENS, N.R., COTE, D. et KSANDER, G. (1991) Inhibition of thromboxane synthetase potentiates the antihypertensive action of an angiotensin-converting enzyme inhibitor by a prostaglandin-dependent but kinin-independent mechanism. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 259: 219-227.
- LEVY, E., SMITH, L., DUMONT, L., GARCEAU, D., GAROFALO, C., THIBAUT, L. et SEIDMAN, E. (1992) The effect of a new calcium channel blocker (TA-3090) on lipoprotein profile and intestinal lipid handling in rodents. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 199: 129-135.
- LI, L. et VAN BREEMEN, C. (1995) Na^+ - Ca^{2+} exchange in intact endothelium of rabbit cardiac valve. *Circ. Res.* 76: 396-404.

- LIU, S.M., MAGNUSSON, K.E. et SUNDQVIST, T. (1993) Microtubules are involved in transport of macromolecules by vesicles in cultured bovine aortic endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 156: 311-316.
- LORTIE, M., SIROIS, M.G., REGOLI, D., COUTURE, R., ADAM, A. et PLANTE, G.E. (1994) Regional changes in the extravasation of albumin in the canine kidney: comparison of bradykinin and water diuresis. *Microvasc. Res.* 48: 282-294.
- LUCIANI, S., BOVA, S., CARGNELLI, G. et DEBETTO, P. (1992) Effects of amiloride on the cardiovascular system: role of Na^+/Ca^+ exchange. *Pharmacol. Res.* 25: 303-310.
- LUM, H., ASCHNER, J.L., PHILLIPS, P.G., FLETCHER, P.W. et MALIK, A.B. (1992) Time course of thrombin-induced increase in endothelial permeability: relationship to Ca_i^{2+} and inositol phosphates. *Am J. Physiol.* 263: L219-L225.
- LUM, H. et MALIK, A.B. (1994) Regulation of vascular endothelial barrier function. *Am. J. Physiol.* 267: L223-L241.
- LUNDERGAN, C.F., FITZPATRICK, T.M., ROSE, J.C., RAMWELL, P.W. et KOT, P.A. (1988) Effect of cyclooxygenase inhibition on the pulmonary vasodilator response to furosemide. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 246: 102-106.
- MACFARLANE, R.G. (1964) The development of ideas on fibrinolysis. *Br. Med. Bull.* 20: 173.

- MACLEAN-FLETCHER, S. et POLLARD, T.D. (1980) Mechanism of action of cytochalasin B on actin. *Cell* 20: 329-341.
- MADRI, J.A., PRATT, B.M. et YANNARIELLO-BROWN, J. Endothelial cell-extracellular matrix interactions: matrix as a modulator of cell function. Dans N. Simionescu et M. Simionescu (Eds): Endothelial cell dysfunctions. Plenum Press, N.Y. (1992) p.269-282.
- MAJNO, G. et PALADE, G.E. (1961) Studies on inflammation. I. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopic study. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11: 571-600.
- MAJNO, G., GILMORE, V. et LEVENTHAL, M. (1967) On the mechanism of vascular leakage caused by histamine-type mediators. A microscopic study in vivo. *Circ. Res.* 21: 833-847.
- MAK, I.T., BOEHME, P. et WEGLIICKI, W.B. (1992) Antioxidant effects of calcium channel blockers against free radical injury in endothelial cells. Correlation of protection with preservation of glutathione levels. *Circ. Res.* 70: 1099-1103.
- MAK, K.K., GUDE, N.M., WALTERS, W.A. et BOURA, A.L. (1984) Effects of vasoactive autacoids on the human umbilical-fetal placental vasculature. *Br. J. Obst. Gyn.* 91: 99-106.
- MALHERBE, E., AUGUET, M., DELAFLOTTE, S., LE HEGARAT, M., BARANES, J., CLOSTRE, F. et BRAQUET, P. (1988) Antihypertensive profile of cicletanine, a

furopyridine derivative: comparison with captopril, indapamide and prazosin. *Pharmacol. Res. Commun.* 20(suppl. 3): 121-133.

MALO, P.E. et WASSERMAN, M.A. (1986) The effect of calcium antagonists on histamine and leukotriene-induced tracheal microvascular permeability in the guinea pig. *Prostaglandins* 32: 221-233.

MANSOUR, M.M, DUNN, M.A. et SALAH, L.A. (1988) Effect of colchicine on collagen synthesis by liver fibroblasts in murine schistosomiasis. *Clin. Chimica Acta* 177: 11-20.

MARTINEZ-HERNANDEZ, A. The basement membrane in the microvasculature. Dans R.M. Effros, H. Schmid-Shönbein et J. Ditzel (Eds): *Microcirculation: current physiologic, medical, and surgical concepts*. Academic Press, N.Y. (1981) p. 125-146.

MAST, B.A., HAYNES, J.H., KRUMMEL, T.M., DIEGELMANN, R.F. et COHEN, I.K. (1992) In vivo degradation of fetal wound hyaluronic acid results in increased fibroplasia, collagen deposition, and neovascularization. *Plast. Reconstr. Surg.* 89: 503-509.

MAYHAN, W.G. (1991) Disruption of the blood-brain barrier in open and closed cranial window preparations in rats. *Stroke* 22: 1059-1063.

MCDONALD, D.M. (1994) Endothelial gaps and permeability of venules in rat tracheas exposed to inflammatory stimuli. *Am. J. Physiol.* 266: L61-L83.

- MECCA, T.E. et LOVE, S.D. (1992) Comparative cardiovascular actions of clentiazem, diltiazem, verapamil, nifedipine and nimodipine in isolated rabbit tissues. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20: 678-682.
- MESSING, M., VAN ESSEN, H., SMITH, T.L., SMITS, J.F.M. et STRUYKER BOUDIER, H.A.J. (1991) Microvascular actions of calcium channel antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* 198: 189-195.
- MILLER, F.N. et SIMS, D.E. (1986) Contractile elements in the regulation of macromolecular permeability. *Fed. Proc.* 45: 84-88.
- MIRONNEAU, J. (1988) Indapamide induced inhibition of calcium movement in smooth muscles. *Am. J. Med.* 84(suppl. 1B): 10-14.
- MOLLACE, V., SALVEMINI, D., SESSA, W.C. et VANE, J.R. (1991) Inhibition of human platelet aggregation by endothelium-derived relaxing factor, sodium nitroprusside or iloprost is potentiated by captopril and reduced thiols. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 258: 820-823.
- MOREL, N.M.L., PETRUZZO, P.P., HECHTMAN, H.B. et SHEPRO, D. (1990) Inflammatory agonists that increase microvascular permeability in vivo stimulate cultured pulmonary microvessel endothelial cell contraction. *Inflammation* 14: 571-583.
- MURPHY, H.S., MAROUGH, M., TILL, G.O. et WARD, P.A. (1994) Phorbol-stimulated influx of extracellular calcium in rat pulmonary artery endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 267: L145-L151.

- NAFTILAN, A.J. (1994) Role of tissue renin-angiotensin system in vascular remodeling and smooth muscle cell growth. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 3: 218-227.
- NAG, S. (1984) Cerebral changes in chronic hypertension: combined permeability and immunohistochemical studies. *Acta Neuropathol.* 62: 178-184.
- NAG, S. (1991) Protective effect of flunarizine on blood-brain permeability alterations in acutely hypertensive rats. *Stroke* 22: 1265-1269.
- NAKAGAWA, M., KOBAYASHI, K., SAWADA, S., TOYODA, T., SHIRAI, K., KATOH, K., YAMAMOTO, K., TSUJI, H., SASAKI, S. et TAKEDA, K. (1991) Comparative studies of angiotensin converting enzyme inhibitors with and without the SH-radical. *Am. J. Hypertens.* 4: 54S-55S.
- NARGEOT, J. et CHARNET, P. (1994) Diversité moléculaire des canaux calciques: du gène à la fonction. *Med. Sci.* 10: 1293-1308.
- NEHLS, V. et DRENCKHAHN, D. (1991) Demonstration of actin filament stress fibers in microvascular endothelial cells in situ. *Microvasc. Res.* 42: 103-112.
- NEREM, R.M., HARRISON, D.G., TAYLOR, W.R. et ALEXANDER, R.W. (1993) Hemodynamics and vascular endothelial biology. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 21(suppl. 1): S6-S10.

- NIEHAUS, G.D., SCHUMACKER, P.T. et SABA, T.M. (1980) Influence of opsonic fibronectin deficiency on lung fluid balance during bacterial sepsis. *J. Appl. Physiol.* 49: 693-699.
- NIIMI, N., NOSO, N. et YAMAMOTO, S. (1992) The effect of histamine on cultured endothelial cells. A study of the mechanism of increased vascular permeability. *Eur. J. Pharmacol.* 221: 325-331.
- NORTHOVER, A.M. (1992a) In vitro effects of PAF on venous endothelial cell actin disposition. *Agents Actions* 35: 40-49.
- NORTHOVER, A.M. (1992b) Inhibition by calcium antagonists of shape changes induced in vitro by pro-inflammatory mediators in venous endothelial cells. *Agents Actions* 36: 237-242.
- O'DONNELL, M.E. (1993) Role of the Na-K-Cl cotransport in endothelial cell volume regulation. *Am. J. Physiol.* 264: C1316-C1326.
- OGURA, T., NISHIDA, N., WATANABE, H., OMIYA, T., YAMAUCHI, T., HOSOYA, M., HIRATA, H., KASHIHARA, N. et OTA, Z. (1994) Alteration of renal receptors for atrial natriuretic peptide and vasopressin in spontaneously hypertensive rats treated with antihypertensive diuretics. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 83: 165-178.
- OKIJI, T., MORITA, I., SUNADA, I. et MUROTA, S. (1989) Involvement of arachidonic acid metabolites in increases in vascular permeability in experimental dental pulpal inflammation in the rat. *Arch. Oral Biol.* 34: 523-528.

- OLSEN, F (1981) Induction of chronic arterial hypertension in rats by repeated transient hypertensive rises in blood pressure. Possible pathogenetic role of delayed hypersensitivity against arteries and arterioles. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 89: 105-109.
- OLSON, J.L., HOSTETTER, T.H., RENNKE, H.G., BRENNER, B.M. et VENKATACHALAM, M.A. (1982) Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. *Kidney Int.* 22: 112-126.
- ONDETTI, M.A. (1988) Structural relationships of angiotensin-converting enzyme inhibitors to pharmacologic activity. *Circ.* 77(suppl. I): I74-I78.
- ORTON, E.C., RAFFESTIN, B. et MCMURTRY, I.F. (1990) Protein kinase C influences rat pulmonary vascular reactivity. *Am. Rev. Resp. Dis.* 141: 654-658.
- OSGOOD, R.W., REINECK, H.J. et STEIN J.H. (1978) Further studies on segmental sodium transport in the rat kidney during expansion of extracellular fluid volume. *J. Clin. Invest.* 62: 311-320.
- PAASKE, W.P. et SEJRSEN, P. (1989) Permeability of continuous capillaries. *Dan. Med. Bull.* 36: 570-590.
- PALADE, G.E. (1953) Fine structure of blood capillaries. *J. Appl. Physiol.* 24: 1424.

- PARTRIDGE, C.A., JEFFREY, J.J. et MALIK, A.B. (1993) A 96-kDa gelatinase induced by TNF- α contributes to increased microvascular endothelial permeability. *Am. J. Physiol.* 265: L438-L447.
- PARVING, H.H. et SMIDT, U.M. (1986) Hypotensive therapy reduces microvascular albumin leakage in insulin-dependent diabetic patients with nephropathy. *Diabetic Med.* 3: 312-325.
- PASSMORE, A.P., COPELAND, S. et JOHNSTON, G.D. (1990) The effects of ibuprofen and indomethacin on renal function in the presence and absence of frusemide in healthy volunteers on a restricted sodium diet. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 29: 311-319.
- PASTERNAK, A., PETTERSSON, E. et KLOCKARS, M. (1978) Effect of furosemide on the urinary excretion of some plasma proteins. *Nephron* 22: 551-557.
- PATERSON, I.S., KLAUSNER, J.M., GOLDMAN, G., WELBOURN, R., ALEXANDER, J.S., SHEPRO, D. et HECHTMAN, H.B. (1989) The endothelial cell cytoskeleton modulates extravascular polymorphonuclear leukocyte accumulations in vivo. *Microvasc. Res.* 38: 49-56.
- PATTERSON, C.E., RHOADES, R.A. et GARCIA J.G.N. (1992) Evans blue dye as a marker of albumin clearance in cultured endothelial monolayer and isolated lung. *J. Appl. Physiol.* 72: 865-873.

- PAUL, J., BEKKER, A.Y. et DURAN, W.N. (1990) Calcium entry blockade prevents leakage of macromolecules induced by ischemia-reperfusion in skeletal muscle. *Circ. Res.* 66: 1636-1642.
- PEACH, M.J. et LOEB, A.L. (1987) Changes in vascular endothelium and its function in systemic arterial hypertension. *Am. J. Cardiol.* 60: 110I-115I.
- PFEFFER, M.A. et FROLICH, E.D. (1973) Hemodynamic and myocardial function in young and old normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* 31: I29-I38.
- PHILLIPS, P.G., LUM, H., MALIK, A.B. et TSAN, M-F. (1989) Phallacidin prevents thrombin-induced increases in endothelial permeability to albumin. *Am. J. Physiol.* 257: C562-C567.
- PINKNEY, J.H. et YUDKIN, J.S. (1994) Antihypertensive drugs: issues beyond blood pressure control. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 5: 397-415.
- PINTER, G.G., LIGHTMAN, S.L., WILSON, P.D., YUEN, L. et BRADBURY, M.W. (1991) Albumin escape from microvessels in kidney, heart and skeletal muscle in experimental diabetes mellitus in the anesthetized rat. *Exp. Physiol.* 76: 899-904.
- PIPER, H.M., NOLL, T., MUHS, A., BESSELMANN, M., KUHNE, W. et WATANABE, H. (1992) Cytosolic Ca^{2+} overload and macromolecule permeability of endothelial monolayers. *Herz* 17: 277-283.

- PLANTE, G.E., BISSONNETTE, M., SIROIS, M.G., REGOLI, D. et SIROIS, P. (1992) Renal permeability alteration precedes hypertension and involves bradykinin in the spontaneously hypertensive rat. *J. Clin. Invest.* 89: 2030-2032.
- PLANTE, G.E., DUBE, J., BOUFFARD, L. et SIROIS, P. (1991) Sodium-phosphate cotransport and vascular reactivity. *Clin. Invest. Med.* 14: 545-550.
- PLANTE, G.E., LAFRENIERE, M-C., TAM, P.T. et SIROIS, P. (1988) Effect of indapamide on phosphate metabolism and vascular reactivity. *Am. J. Med.* 84(suppl.1B): 26-30.
- PEUYO, M.E., N'DIAYE, N. ET MICHEL, J-B. (1996) Angiotensin II elicited signal transduction via AT₁ receptors in endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.* 118: 79-84.
- QIAO, R., SIFLINGER-BIRNBOIM, A., LUM, H., TIRUPPATHI, C. et MALIK, A.B. (1993) Albumin and Ricinus communis agglutinin decrease endothelial permeability via interactions with matrix. *J. Cell. Physiol.* 265: C439-C446.
- RABIET, M.J., PLANTIER, J.L. et DEJANA, E. (1994) Thrombin-induced endothelial cell dysfunction. *Br. Med. Bull.* 50: 936-945.
- RACHMILEWITZ, D. et KARMELI, F. (1980) Effect of colchicine on jejunal adenylate cyclase activity, PGE₂ and cAMP contents. *Eur. J. Pharmacol.* 67: 235-239.
- RASIO, E.A., BENDAYAN, M., GORESKY, C.A., ALEXANDER, J.S. et SHEPRO, D. (1989) Effect of phalloidine on structure and permeability of rete capillaries in the normal and hypoxic state. *Circ. Res.* 65: 591-599.

- RAWSON, R.A. (1943) The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins. *Am. J. Physiol.* 138: 708-717.
- RAY, W.A., SCHAFFNER, W. et OATES, J.A. (1986) Therapeutic choice in the treatment of hypertension. *Am. J. Med.* 81(suppl. 6C): 9-19.
- REDDIGARI, S., SILVERBERG, M. et KAPLAN, A.P. (1995) Assembly of the human plasma kinin-forming cascade along the surface of vascular endothelial cells. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 107: 93-94.
- REDDY, H.K., CAMPBELL, S.E., JANICKI, J.S., ZHOU, G. et WEBER, K.T. (1993) Coronary microvascular fluid flux and permeability: influence of angiotensin II, aldosterone, and acute arterial hypertension. *J. Lab. Clin. Med.* 121: 510-521.
- REED, R.K., LIPSØE, S. et WIIG, H. (1989) Interstitial exclusion of albumin in rat dermis in over- and dehydration. *Am. J. Physiol.* 257: H1819-H1827.
- REED, R.K. et WIIG, H. (1984) Compliance of the interstitial space in rats III. Contribution of skin and skeletal muscle interstitial fluid volume to changes in total extracellular fluid volume. *Acta Physiol. Scand.* 121: 57-63.
- REICHEN, J. et LE, M. (1986) Verapamil favorably influences hepatic microvascular exchange and function in rats with cirrhosis of the liver. *J. Clin. Invest.* 78: 448-455.
- RENKIN, E.M. (1992) Cellular and intercellular transport pathways in exchange vessels. *Am. Rev. Respir. Dis.* 146: S28-S31.

- REUBI, F. (1949) The influence of some peripheral vasodilators on the renal circulation. *Helv. Med. Acta* 16: 297.
- REYES, A.J. et LEARY, W.P. (1993) Clinicopharmacological reappraisal of the potency of diuretics. *Cardiovasc. Drugs Therap.* 7: 23-28.
- RHODIN, J.A.G. Anatomy of the microcirculation. Dans R.M. Effros, H. Schmid-Shönbein et J. Ditzel (Eds): *Microcirculation, current physiologic, medical, and surgical concepts*. Academic Press, N.Y. (1981) p. 11-17.
- RICHARD, C., THUILLEZ, C., DEPRET, J., AUZEPY, P. et GIUDICELLI, J-F. (1993) Regional hemodynamic effects of perindopril in congestive heart failure. *Am. Heart J.* 126: 782-788.
- RICHER, C., DOUSSEAU, M.P. et GIUDICELLI, J.F. (1989) Differential systemic and regional hemodynamic profiles of four angiotensin-I converting-enzyme inhibitors in the rat. *Cardiovasc. Drugs Therap.* 3: 865-872.
- ROBERT, L. et BIREMBAUT, P. Extracellular matrix of the arterial vessel wall. Dans J-P. Camilleri, C.L. Berry, J-N. Flessinger et J.Bariety (Eds): *Diseases of the arterial wall*. Springer-Verlag, London (1989) p. 43-53.
- ROBERT, L., GODEAU, G., GAVIGNET-JEANNIN, C., GROULT, N., SIX, C. et ROBERT, A.M. (1990) Action des oligomères procyanidoliques sur la perméabilité de la paroi vasculaire. Étude par morphologie quantitative. *Path. Biol.* 38: 608-616.

- ROBERTS, J.M., TAYLOR, R.N. et GOLDFEIN, A. (1991) Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am. J. Hypertens.* 4: 700-708.
- RUBATTU, S., STRUK, B., KREUTZ, R., VOLPE, M. et LINDPAINTER, K. (1995) Animal models of genentic hypertension: what can we learn for human hypertension? *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* (suppl. 2): S386-S3939.
- SAFIRSTEIN, R. et LEVITT, M.F. (1986) Diuretics: their impact on cardiovascular disease. *Primary Card.* 6: 88-97.
- SAHLOUL, M.Z., AL-KIEK, R., IVANOVICH, P. et MUJAIS, S.K. (1990) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and antihypertensives. Cooperative malfeasance. *Nephron* 56: 345-352.
- SAMPATH, P. et POLLARD, T.D. (1991) Effects of cytochalasin, phalloidine, and pH on the elongation of actin filaments. *Biochem.* 30: 1973-1980.
- SAXENA, P.R. et BOLT, G.R. (1986) Haemodynamic profiles of vasodilators in experimental hypertension. *Trends Pharmacol. Sci.* 7: 501-506.
- SCALBERT, E., LEVY, B., DESCHE, P., DEVISSAGUET, M. et SAFAR, M.E. (1991) Vascular effects of perindopril: from experimental to clinical investigation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 18(suppl. 17): S25-S32.

- SCHARPE, S., DE MEESTER, I., HENDRIKS, D., VANHOOF, G., VAN SANDE, M. et VRIEND, G. (1991) Proteases and their inhibitors: today and tomorrow. *Biochimie* 73: 121-126.
- SCHELLING, J.R., HANSON, A.S., MARZEC, R. et LINAS, S.L. (1992) Cytoskeleton-dependent endocytosis is required for apical type 1 angiotensin II receptor-mediated phospholipase C activation in cultured rat proximal tubule cells. *J. Clin. Invest.* 90: 2472-2480.
- SCHMITZ, G., HANKOWITZ, J. et KOVACS, E.M. (1991) Cellular processes in atherogenesis: potential targets for Ca^{2+} channel blockers. *Atherosclerosis* 88: 109-132.
- SCHNITTLER, H., FRANKE, R-P. et DRENCKHAHN, D. (1989) Role of endothelial actin filament cytoskeleton in rheology and permeability. *Z. Kardiol.* 78(suppl. 6): 1-4.
- SCHNITTLER, H-J., WILKE, A., GRESS, T., SUTTORP, N. et DRENCKHAHN, D. (1990) Role of actin and myosin in the control of paracellular permeability in pig, rat and human vascular endothelium. *J. Physiol.* 431: 379-401.
- SCHINTZER, J.E. (1992) gp60 is an albumin-binding glycoprotein expressed by continuous endothelium involved in albumin transcytosis. *Am. J. Physiol.* 262: H246-H254.
- SCHROR, K. (1993) Prostaglandin-mediated actions of the renin-angiotensin system. *Arzneimittel-Forschung* 43: 236-241.

- SCHWARTZ, A. (1992) Molecular and cellular aspects of calcium channel antagonism. *Am. J. Cardiol.* 70: 6F-8F.
- SERPINSKAYA, A.S., DENISENKO, O.N., GELFAND, V.I. et BERSHADSKY, A.D. (1990) Stimulation of actin synthesis in phalloidine-treated cells. Evidence for autoregulatory control. *FEBS Lett.* 277: 11-14.
- SHAH, S., KHATRI, I. et FREIS, E.D. (1978) Mechanism of antihypertensive effect of thiazide diuretics. *Am. Heart J.* 95: 611-618.
- SHASBY, D. M. et SHASBY, S. S. (1986) Effects of calcium on transendothelial albumin transfer and electrical resistance. *J. Appl. Physiol.* 60: 71-79.
- SHELDON, R., MOY, A., LINDSLEY, K., SHASBY, S. et SHASBY, D.M. (1993) Role of myosin light-chain phosphorylation in endothelial cell retraction. *Am. J. Physiol.* 265: L606-L612.
- SHEPRO, D et MOREL, N.M. (1993) Pericyte physiology. *FASEB J.* 7: 1031-1038.
- SHORE, A.C. et TOOKE, J.E. (1994) Microvascular function in human essential hypertension. *J. Hypertens.* 12: 717-728.
- SILVER, P.J., O'CONNOR, B., CUMISKEY, W.R., VAN ALLER, G., HAMEL, L.T., BENTLEY, R.G. et PANGANI, E.D. (1991) Inhibition of low Km cGMP phosphodiesterases and Ca⁺(+)-regulated protein kinases and relationship to vasorelaxation by cicletanine. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 257: 382-391.

- SIMS, D.E. et HORNE, M.M. (1994) Non-aqueous fixative preserves macromolecules on the endothelial cell surface: an in situ study. *Eur. J. Morphol.* 32: 59-64.
- SORBI, D., FADLY, M., HICKS, R., ALEXANDER, S. et ARBEIT, L. (1993) Captopril inhibits the 72 kDa and 92 kDa matrix metalloproteinases. *Kidney Int.* 44: 1266-1272.
- SPENCE, J.D. (1987) Hypertension and atherosclerosis: effects of antihypertensive drugs on arterial blood flow patterns. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10(suppl. 2): S112-S115.
- STADDON, J.M., HERRENKNECHT, K., SMALES, C. et RUBIN, L.L. (1995) Evidence that tyrosine phosphorylation may increase tight junction permeability. *J. Cell. Sci.* 108: 609-619.
- STANIMIROVIC, D.B., MCCARRON, R., BERTRAND, N. et SPATZ, M. (1993) Endothelins release ^{35}Cr from cultured human cerebrovascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 191: 1-8.
- STERNBERGH, W.C. et ADELMAN, B. (1992) The temporal relationship between endothelial cell dysfunction and skeletal damage after ischemia and reperfusion. *J. Vasc. Surg.* 16: 30-39.
- STOCK, P., LIEFELDT, L., PAUL, M. et GANTEN, D. (1995) Local renin-angiotensin systems in cardiovascular tissues: localization and functional role. *Cardiol.* 86(suppl. 1): 2-8.

- SUNMAN, W. et SEVER, P.S. (1993) Non-angiotensin effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Clin. Sci.* 85: 661-670.
- SUTTORP, N., POLLEY, M., SEYBOLD, J., SCHNITTLER, H. SEEGER, W., GRIMMINGER, F. et AKTORIES, K. (1991) Adenosine diphosphate-ribosylation of G-actin by botulinum C2 toxin increases endothelial permeability in vitro. *J. Clin. Invest.* 87: 1575-1584.
- SUZUKI, T., KUROSAWA, H., NAITO, K., OTSUKA, M., OHASHI, M. et TAKAITI, O. (1991) Binding characteristics of a new 1,5-benzothiazepine, clementizem, to rat cerebral cortex and skeletal muscle membranes. *Eur. J. Pharmacol.* 194: 195-200.
- TAGAMI, M., KUBOTA, A., NARA, Y. et YAMORI, Y. (1991) Detailed disease processes of cerebral pericytes and astrocytes in stroke-prone SHR. *Clin. Exp. Hypertens.* 13: 1069-1075.
- TEDGUI, A., MERVAL, R. et ESPOSITO, B. (1992) Albumin transport characteristics of rat aorta in early phase of hypertension. *Circ. Res.* 71: 932-942.
- TERENGHI, G., BULL, H.A., BUNKER, C.B., SPRINGALL, D.R., ZHAO, Y., WHARTON, J., DOWD, P.M. et POLAK, J.M. (1991) Endothelin-1 in human skin: immunohistochemical, receptor binding, and functional studies. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 17(suppl. 7): S467-S470.
- THILO-KÖRNER, D.G.S. et HEINRICH, D. Historical development of endothelial cell research. Dans D.G.S. Thilo-Körner et R.I. Freshney (Eds): *The endothelial cell - a pluripotent control cell of the vessel wall*. Karger, Basel. (1983) p. 1-13.

- TIAN, R., AALKJÆR, C. et ANDREASEN, F. (1991) Mechanisms behind the relaxing effect of furosemide on the isolated rabbit ear artery. *Pharmacol. Toxicol.* 69: 406-410.
- TOLINS, J.P. et RAIJ, L. (1990) Comparison of converting enzyme inhibitor and calcium channel blocker in hypertensive glomerular injury. *Hypertens.* 16: 452-461.
- TOYOFUKU, T., KOYAMA, S., KOBAYASHI, T., KUSAMA, S. et UEDA, G. (1989) Effects of polycations on pulmonary vascular permeability in conscious sheep. *J. Clin. Invest.* 83: 2063-2069.
- UDAKA, K., TAKEUCHI, Y. et MOVAT, H.Z. (1970) Simple method for quantitation of enhanced vascular permeability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 133: 1384-1387.
- UEHARA, Y., KAWABATA, Y., HIRAWA, N., TAKADA, S., NAGATA, T., NUMABE, A., IWAI, J. et SUGIMOTO, T. (1993a) Possible radical scavenging properties of cicletanine and renal protection in Dahl salt sensitive rats. *Am. J. Hypertens.* 6: 463-472.
- UEHARA, Y., KAWABATA, Y., SHIRAHASE, H., WADA, K., HASHIZUME, Y., MORISHITA, S., NUMABE, A. et IWAI, J. (1993b) Oxygen radical scavengers and renal protection by indapamide diuretic in salt-induced hypertension of Dahl strain rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 22(suppl. 6): S42-S46.
- UEHARA, Y., SHIRAHASE, H., NAGATA, T., ISHIMITSU, T., MORISHITA, S., OSUMI, S., MATSUOKA, H. et SUGIMOTO, T. (1990) Radical scavengers of

indapamide in prostacyclin synthesis in rat smooth muscle cell. *Hypertens.* 15: 216-224.

VAN-BRUMMELEN, P., MAN IN 'T VELD, A.J. et SCHALEKAMP, M.A.D.H. (1980) Hemodynamic changes during long-term thiazide treatment of essential hypertension in responders and nonresponders. *Clin. Pharmacol. Therap.* 27: 328-336.

WEBER, P.C., SCHERER, B. et LARSSON, C. (1977) Increase in free arachidonic acid by furosemide in man as the cause of prostaglandin and renin release. *Eur. J. Pharmacol.* 41: 329-332.

WEINSTEIN, D.B. et HEIDER, J.G. (1989) Protective action of calcium channel antagonists in atherogenesis and experimental vascular injury. *Am. J. Hypertens.* 2: 205-212.

WELLES, S.L., SHEPRO, D. et HECHTMAN, H.B. (1985) Eicosanoid modulation of stress fibers in cultured bovine aortic endothelial cells. *Inflammation.* 9: 439-450.

WHEATLEY, E.M., MCKEOWN-LONGO, P.J., VINCENT, P.A. et SABA, T.M. (1993) Incorporation of fibronectin into matrix decreases TNF-induced increase in endothelial monolayer permeability. *Am. J. Physiol.* 265: L148-L157.

WHEATLEY, E.M., VINCENT, P.A., MCKEOWN-LONGO, P.J. et SABA, T.M. (1993) Effect of fibronectin on permeability of normal and TNF-treated lung endothelial cell monolayers. *Am. J. Physiol.* 264: R90-R96.

- WIIG, H., DECARLO, M., SIBLEY, L. et RENKIN, E.M. (1992) Interstitial exclusion of albumin in rat tissues measured by a continuous infusion method. *Am. J. Physiol.* 263: H1222-H1233.
- WILLIAMS, T.J. (1979) Prostaglandin E₂, prostaglandin I₂ and the vascular changes of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 65: 517-524.
- WILLIAMS, T.J., BRAIN, S.D., HELLEWELL, P.G., JOSE, P.J., NOURSHARGH, S. et RAMPART, M. (1988) Alterations in microvascular permeability induced by products released during inflammation. *Prog. Clin. Biol. Res.* 263: 55-69.
- WU, C.H., CHI, J.C., LIN, S.J., JAN, K.M., WANG, D.L. et CHIEN, S. (1990) Transendothelial macromolecular transport in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens.* 16: 154-161.
- WYSOLMERSKI, R.B. et LAGUNOFF, D. (1991) Regulation of permeabilized endothelial cell retraction by myosin phosphorylation. *Am. J. Physiol.* 261: C32-C40.
- YAHARA, I., HARADA, F., SEKITA, S., YOSHIHARA, K. et NATORI, S. (1982) Correlation between effects of 24 different cytochalasins on cellular structures and cellular events and those on actin in vitro. *J. Cell Biol.* 92: 69-78.
- YAMADA, Y., YAKOTA, M., FURUMICHI, T., FURUI, H., YAMAUCHI, K. et SAITO, H. (1990) Protective effects of calcium channel blockers on hydrogen peroxide induced increases in endothelial permeability. *Cardiovasc. Res.* 24: 993-997.

- YAMORI, Y., HAMASHIMA, Y., HORIE, R., HANDA, H. et SATO, M. (1975)
Pathogenesis of acute arterial fat deposition in spontaneously hypertensive rats. *Jap. Circ. J.* 30: 601-609.
- YAP, A.S., STEVENSON, B.R., ABEL, K.C., CRAGOE, E.J. Jr. et MANLEY, S.W.
(1995) Microtubule integrity is necessary for epithelial barrier function of cultured thyroid cell monolayers. *Exp. Cell. Res.* 218: 540-550.
- YUAN, Y., GRANGER, H.J., ZAWELJA, D.C. et CHILIAN, W.M. (1992) Flow modulates coronary venular permeability by a nitric oxide-related mechanism. *Am. J. Physiol.* 263: H641-H646.
- YURCHENKO, P.D. et O'REAR, J.J. (1994) Basal lamina assembly. *Cur. Opin. Cell. Biol.* 6: 674-681.
- ZHANG, X.M. et ELLIS, E.F. (1990) Superoxide dismutase reduces permeability and edema induced by hypertension in rats. *Am. J. Physiol.* 259: H497-H503.